FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1962 N° 14

TITRE DE LA THESE

Contribution à l'étude du noyau imidazole et de quelques uns de ses dérivés en radioprotection chimique.

Deuxième sujet : Etude des lames minces organiques absorbantes par la détermination de leurs propriétés optiques

THÈSE

présentée à la Faculté mixte
de Médecine et de Pharmacie de Lyon
et soutenue publiquement le 15 Novembre 1962
pour obtenir le grade de Docteur d'Etat en Pharmacie
par

Yvette BERNARD
née le 26 Juillet 1932
à CERCIER (Haute-Savoie)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550005_0030

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1962

[illegible]

Contribution à l'étude du noyau imidazole et de quelques uns de ses dérivés en radioprotection chimique.

Deuxième sujet : Étude des bases azotées organiques [illegible] par la détermination de leurs propriétés optiques

THÈSE

présentée à la Faculté mixte
de Médecine et de Pharmacie de Lyon
et soutenue publiquement le 15 Novembre 1962
pour obtenir le grade de Docteur d'Université (Pharmacie)
par

[illegible]
née le 26 juillet 1937
à LIMOGES (Haute-Vienne)

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1962 N°

TITRE DE LA THESE

Contribution à l'étude du noyau imidazole et de quelques uns de ses dérivés en radioprotection chimique.

Deuxième sujet : Etude des lames minces organiques absorbantes par la détermination de leurs propriétés optiques

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

THÈSE

présentée à la Faculté mixte
de Médecine et de Pharmacie de Lyon
et soutenue publiquement le 15 Novembre 1962
pour obtenir le grade de Docteur d'Etat en Pharmacie
par

Yvette BERNARD
née le 26 Juillet 1932
à CERCIER (Haute-Savoie)

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

P E R S O N N E L   D E   L A   F A C U L T E

M.J. LEPINE : Doyen Honoraire membre de l'Institut   M.H. HERMANN : Doyen Correspondant de l'Institut.

MM. M. LEVRAT, Assesseur
L. REVOL, Assesseur

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. COLLET, GUIART, PATEL, LEPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY.

PROFESSEURS

HERMANN	Physiologie
CIBERT	Clinique urologique
BONTHUS	Physique biologique (détaché à Beyrouth)
DECHAUME	Clinique neuro-psychiatrique et hygiène mentale
ROCHET	Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire
CHAMBON	Chimie organique et toxicologie
WERTHEINER	Clinique chirurgicale B
PAUPERT-RAVAULT	Clinique médicale B
FROMENT	Clinique et prophylaxie cardiovasculaires
CROIZAT	Clinique médicale C
ENSELME	Chimie biologique et médicale
MALLET-GUY	Clinique chirurgicale A
GUILLEMINET	Clinique de chirurgie orthopédique et de chirurgie infantile
REVOL	Pharmacie galénique et matière médicale
POLLOSSON	Clinique gynécologique
PIGEAUD	Clinique obstétricale
BOURRET	Médecine du travail
LEVRAT	Clinique médicale A
SOHIER	Hygiène et action sanitaire et sociale
DUCLOS	Clinique stomatologique
BERNHEIM	Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge
JOURDAN	Biologie médicale et pharmacodynamie
NETIEN	Botanique et cryptogamie
BERTRAND	Clinique chirurgicale C
BADINAND	Chimie analytique pharmaceutique

DREVON	Pharmacie chimique et pharmacologie
ROCHE	Médecine légale et déontologie
COUDERT	Parasitologie et pathologie exotique
MOUNIER-KUHN	Clinique d'oto-rhino-laryngologie et d'audio-phonologie
PAUFIQUE	Clinique ophtalmologique
THIERS	Clinique de dermatologie, syphiligraphie et allergologie
BRUN	Clinique pneumo-phtisiologie
CREYSSEL	Clinique traumatologique des membres
DARGENT	Cancérologie
GUICHARD	Anatomie pathologique
GIRARD Paul	Pathologie générale et expérimentale
LATARJET	Anatomie
PEYCELON	Pathologie chirurgicale
GIRARD Marcel	Thérapeutique
VACHON	Pathologie médicale
GALY	Physio-pathologie des voies respiratoires
KEHL	Histologie et embryologie
PAPILLON	Radiologie
JEUNE	Clinique des maladies infectieuses
GONIN	Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale
MONNET	Bactériologie
BANSSILLON	Physiologie et pathologie obstétricales
CHATONNET	Physiologie
GUINET	Clinique des maladies endocrinologiques

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

BERGER	Physique nucléaire appliquée à la médecine
DORCHE	Technologie pharmaceutique
CIER J. François	Physiologie
BERTOYE	Bactériologie

PROFESSEURS SANS CHAIRE

ROMAN	Parasitologie
CIER André	Pharmacie chimique et pharmacologie
PERROT	Chimie organique et toxicologie

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Médecine

FEROLDI	Anatomie pathologi ue
CREYSSEL Roger	Chimie biologique et médicale
DUROUX	Anatomie
BRETTE	Thérapeutique

DUMONT	Histologie
THIVOLET	Hygiène
GARIN	Parasitologie
MORET	Physique
BOUCHET	Anatomie
TOMMASI	Anatomie pathologique
RIFFAT	Hygiène
JOUVET	Pathologie expérimentale
FAVRE-GILLY	Hématologie

<u>Pharmacie</u>

ODDOUX	Botanique et cryptogamie
MALLEIN	Chimie analytique
GRAS	Chimie biologique
PEYRIN	Physique

<u>AGREGES EN EXERCICE</u>

PONT	Médecine générale
VIGNON	Médecine générale
REVOL	Médecine générale
PLAUCHU	Médecine générale
TRAEGER	Médecine générale
MARION	Chirurgie générale
MICHAUD	Chirurgie générale
JAUBERT de BEAUJEU	Chirurgie générale
SAUTOT	Chirurgie générale
GUILLEMIN	Chirurgie générale
BURTHIAULT	Obstétrique
GIGNOUX	Oto-rhino-laryngologie
FRANCOIS	Pédiatrie
FREIDEL	Stomatologie
DEVIC	Médecine générale
DESPIERRES	Médecine générale
De MOURGUES	Chirurgie générale
FRANCILLON	Chirurgie générale
SAUBIER	Chirurgie générale
COLOMB	Dermatologie
COLIN	Médecine légale
TOLOT	Médecine du travail
GUYOTAT	Neuro-Psychiatrie
SCHOTT	Neuro-Psychiatrie
DUMONT	Obstétrique
BONAMOUR	Ophtalmologie
DURAND	Urologie
GARDE	Médecine générale
PERRIN	Médecine générale
LARBRE	Médecine générale
MORNEX	Médecine générale
NORMAND	Médecine générale

MARET	Chirurgie générale
DESCOTES	Chirurgie générale
CHASSARD	Electro-radiologie
ALLEGRE	Neuro-chirurgie
HUGONNIER	Ophtalmologie
FAYSSE	Orthopédie
GAILLARD	Oto-rhino-laryngologie
KALB	Pneumo-phtisiologie

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président	Monsieur le Professeur DREVON
Assesseurs	Monsieur le Professeur BERGER
	Monsieur le Professeur CIER
	Monsieur le Professeur RINALDI

A la mémoire de mon père

A ma mère

Son dévouement m'a permis de mener à bien les études que j'ai souhaité entreprendre.

Que cette thèse lui soit dédiée en témoignage de mon amour et de mon infinie reconnaissance

A toute ma famille

A Monsieur le Professeur R. RINALDI
Professeur de Physique Biologique et Médicale
à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie
de Grenoble.

Il a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et a su nous guider avec bienveillance vers un travail de recherche. Qu'il nous soit permis de lui exprimer ici toute notre respectueuse reconnaissance pour la sollicitude qu'il nous a toujours témoignée.

Il nous a confié le sujet de cette thèse et ses conseils nous ont été précieux tout au long de ce travail.

A Monsieur le Professeur DREVON
Professeur de Pharmacie Chimique et Pharmacologie
à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie
de Lyon.

Auprès duquel nous avons toujours trouvé le plus bienveillant accueil et qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre Jury de Thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur BERGER
Professeur de Physique Biologique et Médicale
à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie
de Lyon.

Qu'il nous soit permis de lui exprimer ici toute notre gratitude pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail et pour la bienveillance qu'il nous a témoignée.

A Monsieur le Professeur A.CIER
Professeur de Pharmacie Chimique et Pharmacologie
à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie
de Lyon.

En témoignage de reconnaissance pour l'honneur qu'il nous a fait de le compter parmi nos juges.

Nous tenons à exprimer notre respectueuse gratitude à Monsieur le Professeur NEEL, Membre de l'Institut, Directeur du Centre d'Etudes Nucléaires et de l'Institut Polytechnique de Grenoble pour avoir permis la réalisation de ce travail dans le laboratoire de Radiobiologie du C.E.N.G.

A nos Maîtres de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Grenoble.

A Monsieur P. CHIADOT

A Mademoiselle M. LAURENT

Leur aide nous a été précieuse pour la réalisation de ce travail. Nous les en remercions bien sincèrement.

A tous les membres du laboratoire de Radiobiologie du C.E.N.G.

A tous mes amis

I N T R O D U C T I O N

Parallèlement aux développements de tous ordres de l'utilisation de l'Energie Atomique, une place importante est accordée au problème de la protection contre les radiations ionisantes. Toutes les méthodes de protection, qu'elles relèvent de procédés biologiques, physiques ou chimiques, ont suscité quantité de travaux. Du fait de notre formation, nous avons été plus particulièrement intéressée par les procédés de la dernière catégorie et le présent mémoire est une modeste contribution à leur étude.

En fait le problème de la réduction des effets des rayonnements ionisants par voie chimique ne s'est trouvé posé que lorsque la théorie de l'action indirecte du rayonnement (1940) est venue compléter la théorie de l'action directe ou théorie de la cible qui s'était révélée insuffisante. Actuellement, l'importance attachée par les radiobiologistes aux procédés chimiques de protection contre les radiations, est non seulement soulignée par le très grand nombre de publications qui s'y rapportent, mais encore par la notoriété des laboratoires qui s'y intéressent. Parmi ces derniers nous citerons ceux de BACQ, BETZ et MAISIN en Belgique, VAN BEKKUM aux Pays-Bas, ALEXANDER, GRAY et MOLE en Angleterre, ELDJARN et PIHL en Norvège, LANGENDORFF et KOCH en Allemagne, LACASSAGNE et LATARJET en France, GRAEVSKI, SMOROLINTSEVA et SEMENOV en

Union Soviétique et enfin HOLLAENDER, PATT, CRONKITE et DOHERTY aux Etats-Unis.

Le problème de la radioprotection chimique a parfois été ramené à celui de l'administration de substances ayant pour but d'atténuer les lésions dans les tissus radiosensibles ; c'était là une vue trop schématique ne permettant d'envisager qu'une utilisation évidemment limitée de ces produits. Certes l'étude de la radioprotection chimique garde encore toute sa valeur dans le cas d'irradiations limitées ou de contamination de grands espaces, mais elle est également intéressante à bien d'autres points de vue. En particulier, il n'est pas illogique de penser que l'étude des radioprotecteurs, qui a déjà permis de découvrir un grand nombre de faits essentiels, ne donnera pas une solution au problème majeur de la radiobiologie fondamentale qui est celui de la connaissance du processus physico-chimique responsable des lésions et dont l'importance a été parfaitement exposée par ELDJARN et PIHL. Ces auteurs écrivent en effet : "l'un des objectifs principaux de la radiobiologie fondamentale est de découvrir la nature même du fait biochimique initial, c'est-à-dire la perturbation biochimique apparaissant en une fraction de seconde après irradiation et déclenchant la chaine des processus qui peuvent, le cas échéant, provoquer la destruction de la cellule".

Les processus physico-chimiques primaires résultant de l'interaction du rayonnement et de la matière vivante n'étant pas directement accessibles, les chercheurs ont été amenés à utiliser des méthodes plus ou moins indirectes pour essayer de pénétrer plus avant dans la connaissance de ces phénomènes. C'est ainsi que,

dans ce but, furent entreprises, d'une part les recherches relatives à l'action des radiations ionisantes sur l'eau, les solutions et les constituants cellulaires isolés (enzymes, chromosomes, etc...) et, d'autre part, les études concernant les radioprotecteurs chimiques dont l'intérêt théorique est lié à leur présence obligatoire avant toute irradiation du matériel biologique protégé. Cet impératif bien connu en protection chimique permet en effet d'imaginer que l'étude du mécanisme d'action des radioprotecteurs qui se situe au niveau même de la lésion initiale, est susceptible d'apporter des données essentielles capables d'éclairer le problème des processus physico-chimiques primaires. De là, la necessité d'une étude systématique des propriétés radioprotectrices de familles chimiques aux structures les plus diverses.

C'est avec cette optique que nous avons entrepris dans ce travail l'étude de substances caractérisées par le noyau imidazole. La première partie de ce mémoire est consacrée à une étude bibliographique dont le but est de préciser l'état actuel de nos connaissances en ce qui concerne la radioprotection chimique. Dans une seconde partie nous avons décrit le travail expérimental portant sur une série de huit composés dont on a testé l'activité protectrice vis à vis d'une dose léthale de rayonnement X chez la souris. Enfin nous exposons pour terminer les résultats de cette étude et les conclusions que nous pensons pouvoir en tirer.

GENERALITES SUR LA RADIOPROTECTION CHIMIQUE

Avant d'exposer le détail des recherches que nous avons entreprises dans le cadre de la radioprotection chimique, dans une première partie, nous procéderons à un rapide examen d'ensemble des connaissances actuelles relatives à ce problème.

Dans un premier chapitre, nous rappellerons brièvement quelques données classiques de radiobiologie concernant l'action des radiations ionisantes in vivo, afin de permettre une meilleure compréhension des différentes théories proposées au sujet du mode d'action des radioprotecteurs.

Le deuxième chapitre sera consacré à une revue des principales substances chimiques connues actuellement pour leurs propriétés radioprotectrices.

Enfin, nous rapporterons dans le chapitre III les différentes théories qui ont été avancées pour expliquer le mécanisme de l'action des protecteurs.

C H A P I T R E I

RAPPELS DE RADIOBIOLOGIE

L'action des rayonnements sur un sytème biologique peut se ramener, quelque soit le phénomène initial responsable, à l'apport et à l'absorption d'une certaine quantité d'énergie dans le tissu irradié. Les lésions morphologiques résultantes sont bien connues des radiobiologistes mais, entre ces deux étapes, le développement des effets biologiques primaires fait encore l'objet de nombreuses hypothèses.

Dès 1924 les travaux de CROWTHER (46bis) sur l'inhibition de la division cellulaire par les rayonnements avaient donné naissance à ce que l'on a appelé "la théorie de la cible". Soutenue par de nombreux chercheurs au moment de son apparition, (LEA (12)), cette hypothèse postule que l'énergie fournie en un point par une ionisation est suffisante pour léser l'entourage immédiat de ce point. Donc, on peut considérer que, si un sytème biologique est inactivé par le passage d'une seule particule ou d'un photon, le choc a lieu en un point sensible, susceptible d'être endommagé par l'énergie absorbée.

Cette hypothèse donne une interprétation satisfaisante de l'action des radiations dans certains cas et a été vérifiée expérimentalement par l'irradiation de bactériophages, virus et graines. Il est évident que, dans ces conditions, seule une protection physique

formant écran entre la source d'irradiation et la cible peut être envisagée.

Mais des contradictions apparues entre certains résultats expérimentaux et ceux prévus par cette théorie : la possibilité d'une protection chimique (20-91), l'effet de dilution mis en évidence par DALE (47) avec des solutions d'enzymes, l'action de l'oxygène ont amené les chercheurs à admettre l'existence d'une action indirecte du rayonnement. Dans ce cas l'énergie n'est pas absorbée localement par la cible, mais peut être transférée à une autre molécule (1). L'agent le plus connu de ce transfert dans le cas d'irradiation de matériel biologique est l'eau. L'absorption d'énergie se traduit par l'ionisation et l'excitation des molécules de ce solvant et la formation de radicaux libres HO_2°, $HO^{\bullet}$, $H^{\bullet}$ et H_2O° . Ainsi la théorie de l'action indirecte des rayonnements admet que ceux-ci agissent sur le milieu ambiant et que ce sont les radicaux libres ainsi formés qui sont à l'origine des lésions des molécules biologiques. Les réactions radiochimiques intermédiaires sont le plus souvent liées à des processus d'oxydoréduction, et ce fait peut fournir une interprétation de "l'effet oxygène" qui est un phénomène général d'une grande importance en radiobiologie.

Il se caractérise par une résistance augmentée vis à vis de l'irradiation lorsque celle-ci à lieu en absence d'oxygène, ou lorsque la pression de ce gaz est faible.

Cette action, particulièrement marquée avec les rayons X et gamma, et qui fut d'abord rattachée à un processus physiologique a ensuite été mise en évidence dans des solutions aqueuses irradiées. Des travaux ont permis

de démontrer le rôle de l'effet oxygène dans la formation et la survie des radicaux libres, et son importance dans l'action indirecte des radiations (1). Par suite on peut en conclure que la tension d'oxygène dans les tissus des organismes irradiés est un facteur déterminant pour la production des lésions.

Des divers mécanismes que nous venons de citer concernant les phénomènes primaires de l'irradiation sont parmi les plus classiques et les mieux étudiés à l'heure actuelle. Mais il faut bien admettre que dans le cas de la radiobiologie le problème est plus délicat. Il faut envisager non seulement l'attaque directe ou indirecte des constituants cellulaires isolés, mais aussi le fait que ces molécules appartiennent à un ensemble organisé ; la cellule, dont l'irradiation peut affecter le comportement propre de chacun de ses composants. De plus cette cellule se trouvera lors de l'irradiation d'un animal in vivo, soumise à un enchainement de réactions locales ou générales dont le résultat global sera d'une interprétation difficile.

L'action des radioprotecteurs chimiques sur un système aussi complexe se traduit généralement par une diminution des effets de l'irradiation, pouvant être considérée comme résultant d'une réduction de la dose de rayonnements. On peut calculer alors un facteur de réduction de dose (FRD) qui est le rapport entre la dose nécessaire pour produire une action donnée en présence du protecteur et celle qui produirait ce même effet en son absence. Ce facteur qui parait mesurer correctement l'activité d'un protecteur sur un phénomène donné, ne peut en aucun cas, être tenu pour valable vis à vis d'autres effets produits par l'irradiation, pas plus qu'il ne caractérise le mode d'intervention

du radioprotecteur.

Or, après ce qui vient d'être exposé au sujet des mécanismes d'action des radiations ionisantes sur un matériel biologique, on conçoit que l'on puisse envisager de très nombreuses réactions physico-chimiques induites par des rayonnements et sur lesquelles peuvent agir les radioprotecteurs. Mais nous devons tenir compte du fait que la radioprotection chimique est liée à des conditions d'intervention très stricte : le radioprotecteur doit être présent pendant l'irradiation. Ce qui suppose que "la prévention des effets du rayonnement a lieu au stade de l'intervention primaire avec les structures chimiques de la matière irradiée" (13).

Et nous verrons au Chapitre III que les différents processus que nous avons évoqués au sujet de l'action indirecte des rayonnements (radicaux libres et effet oxygène) fourniront des bases solides pour l'élaboration de théories relatives au mécanisme de la radioprotection chimique.

C H A P I T R E I I

COMPOSES RADIOPROTECTEURS

Dès 1949, à la suite des travaux de BACQ et de ses collaborateurs ainsi que ceux de PATT et son école, le problème de la radioprotection chimique s'est trouvé nettement défini. Depuis cette époque un très grand nombre de composés les plus divers ont été étudiés comme radioprotecteurs.

Ces produits appartiennent en effet à des classes de composés extrèmement différentes et apparemment sans aucune relation entre elles, aussi bien dans leurs caractéristiques chimiques que physiques.

Dans certains cas cette étude se justifie par les propriétés ou la structure particulière d'un produit, mais dans d'autres cas nous nous trouvons en présence d'étude systématique de famille de composés.

Dans ces conditions, il apparait bien difficile de classer de façon satisfaisante l'ensemble des différents protecteurs connus. Nous avons choisi pour faciliter cette présentation de les grouper suivant leur fonction chimique, et leur propriétés physiologiques.
Nous avons ainsi :

1) - les composés soufrés
2) - les composés aminés
3) - les composés hydroxylés

4) - les substances anoxémiantes

5) - les composés divers qui ne se rattachent à aucun des groupes précédents.

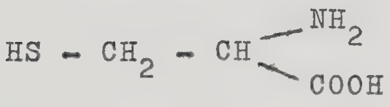
1°) <u>Composés soufrés</u> :

Il est évident qu'à l'heure actuelle de nombreuses substances considérées comme des radioprotecteurs excellents appartiennent à cette série.

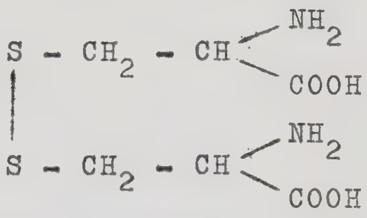
Parmi ces substances contenant du soufre, on peut distinguer :
- le groupe de la cystéine-cystéamine
- le groupe de la mercaptoéthylguanidine
- et un dernier groupe comportant différentes substances telles que les thiazoles, la thiourée, les dithiocarbamates.

a) - Groupe de la cystéine-cystéamine.

La cystéine, étudiée par PATT et ses collaborateurs, en 1949 (91), est un acide aminé dont l'action protectrice est relativement faible et son disulfure, la cystine est totalement inactif.



Cystéine



Cystine

La cystéamine ou mercaptoéthylamine, étudiée en 1951 par BACQ et ses collaborateurs (22), est l'un des meilleur protecteurs connus et elle est devenue le produit de référence en radioprotection chimique. Son action, excel-

lente chez la souris, est remarquable sur E. Coli (FRD = 12). Chez la souris la dose qui doit être utilisée pour obtenir une protection efficace est assez voisine de la dose toxique ; et de plus ce produit s'altère très facilement par oxydation. Le disulfure correspondant, la cystamine possède une activité égale à celle de la cystéamine et présente les avantages d'être chimiquement stable, légèrement moins toxique et actif per os (19). Le facteur de réduction de dose obtenu avec ces composés est de 1,8 à 2.

$$SH - CH_2 - CH_2 - NH_2 \qquad \begin{array}{l} S - CH_2 - CH_2 - NH_2 \\ | \\ S - CH_2 - CH_2 - NH_2 \end{array}$$

Cystéamine   Cystamine

L'étude du pouvoir radioprotecteur de différents dérivés de la cystéamine a permis de se faire une idée plus précise de l'importance des divers groupements chimiques de cette molécule en ce qui concerne ses propriétés . (ALEXANDER et collaborateurs (16). DOHERTY et collaborateurs (51)).En effet, une substitution effectuée sur le groupe aminé ou sulfhydrilé est suffisante pour diminuer fortement ou même supprimer l'activité de ce composé. De même, l'augmentation du nombre de $-CH_2-$ de la chaine carbonée entraine une chute de l'efficacité lorsque ce nombre atteint 4 ou 5. Il ressort donc que la présence d'un groupe $-SH$ et $-NH_2$ libre, séparés par 2 ou 3 carbones au maximum représente le schéma le plus favorable, dans ce cas, à l'apparition de la radioprotection.

On peut rapprocher ces résultats, des travaux effectués par les écoles Belges et Américaines sur des composés contenant ces mêmes groupements et utilisés dans

la protection contre les radiomimétiques : action du dimercaptopropanol par exemple contre les ypérites à l'azote. L'identité des lésions obtenues avec ces corps et avec les radiations ionisantes avait déjà orienté les recherches de PATT vers le corps à radicaux -SH.

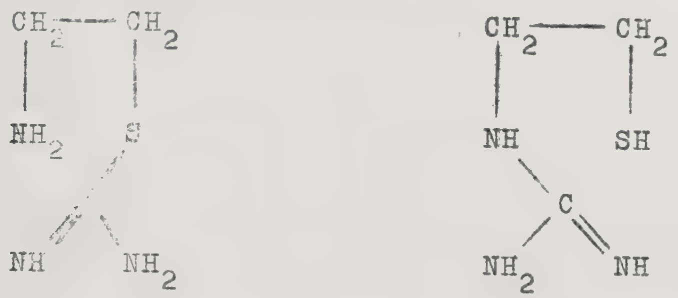
b) - Groupe des mercaptoalkylguanidines.

DOHERTY et ses collaborateurs (102-99) ont découvert l'activité des produits appartenant à ce groupe en effectuant une étude systématique de très nombreux composés contenant le groupement isothiourée ou appartenant à la série des aminoalkylisothiourée. Il est apparu que certains composés dans lesquels le groupe -SH des mercaptoalkylamines était remplacé par un groupe isothiourée étaient particulièrement actifs ; par exemple : "l'aminoethylisothiourée -Br-HBr" (AET) est plus actif à concentration molaire égale que la mercaptoethylamine ; il est d'autre part moins toxique et chimiquement stable.

De plus DOHERTY et ses collaborateurs ont réalisé dans ce travail, une étude très importante sur les relations entre la structure et l'activité protectrice de ces composés. Les résultats montrent que la présence d'un groupe isothiourée seul est inefficace et qu'un groupe aminé est essentiel. Le remplacement de ce radical aminé par d'autres groupements basiques ne donne pas de résultats satisfaisants. Des substitutions par les amines tertiaires, quaternaires ou cycliques conduisent à des composés inactifs.

Ces auteurs ont entrepris ensuite de déterminer quelle était la forme d'action de l'AET. Des tests au nitroprussiate, immédiatement positifs avec une solution de AET indiquent la présence d'un -SH libre. D'autre part,

un test de SAKAGUCHI très net met en évidence un groupe guanidine et amène à la conclusion que, en solution, l'AET subit une "intratransguanilation" à pH neutre pour former de la mercaptoéthylguanidine.



De la même façon l'aminopropylisothiourée se transforme en mercaptopropylguanidine. D'autres expériences ont montré que tous les composés de cette série qui sont incapables de subir un réarrangement intramoléculaire, du fait de la longueur de la chaine carbonée par exemple, sont complétement inefficaces contre une dose léthale de radiations.

En conclusion, il ressort de l'examen des composés sulfhydriles actifs que nous venons de citer, que l'activité radioprotectrice semble liée à la présence d'un groupe guanidine ou amine conjugué avec un groupe sulfhydrile ; la séparation de ces deux groupes par 2 ou 3 atomes de carbone au maximum est préférable. Il faut cependant insister sur le renforcement de l'activité obtenu par le remplacement du groupe amine par le groupe guanidine. D'après DOHERTY, 47 micromoles de mercaptoéthylamine donnent la même protection que 16 micromoles de mercaptoethylguanidine. Dans le cas des mercaptoalkylguanidines les disulfures, tout en gardant une certaine activité, sont beaucoup moins efficaces que les thiols correspondants.

c) - Les résultats spectaculaires obtenus avec les composés précédents ont amené de nombreux auteurs à considérer la présence d'un groupe soufré comme essentiel pour l'apparition d'une activité protectrice et par suite une foule de substances contenant du soufre ont été étudiées. Parmi celles qui présentent un intérêt certain, nous devons citer les recherches de VAN BEKKUM (30) sur des dérivés de l'acide dithiocarbamique : le diméthyl et le N-diéthyldithiocarbamate ont donné d'excellents résultats, comparables à ceux obtenus avec la cystéamine pour des doses de radiations de 700 à 900 r.

La thiourée et quelques dérivés (77) ont été également étudiés par de nombreux chercheurs parmi lesquels il faut signaler BETZ (32), qui a obtenu une protection de 42% avec la thiourée.

Le glutathion dont les propriétés réductrices sont bien connues, a été étudié par CHAPMAN et CRONKITE (46). Administré per os chez le rat, il donne une bonne protection, de même que par voie sous cutanée chez la souris.

Enfin parmi les très nombreux composés soufrés étudiés que nous ne pouvons songer à énumérer tous, nous citerons au hasard : l'acide thioctique (62), le mercaptobenzothiazole, la phényl-amidine de l'acide 2-thiophène-carboxylique, la 3-mercapto-méthyl-4-oxyméthyl-5-oxyméthyl-pyridine et l'acide aminoéthylthiosulfurique (66-69) qui provoque une faible augmentation de la survie de souris irradiées.

Mentionnons que parmi ces composés soufrés on trouve également des radiosensibilisants parmi lesquels BACQ (1) cite l'homocystéine, l'isocystéine et alpha-méthyl cystéine, KOCH et LANGENDORFF (78) la D-pénicillamine qui est cependant considérée comme protectrice par certains auteurs.

2°) Composés aminés :

A coté des substances contenant du soufre les composés aminés ont été tout particulièrement étudiés en radioprotection chimique du fait de leur importance biologique (21). Ainsi tous les acides aminés connus ont été testés pour leur activité (61) mais ce sont des protecteurs faibles et il est bien établi que les amines correspondantes obtenues par décarboxylation sont beaucoup plus actives. Parmi les plus intéressantes il faut citer la tryptamine, la tyramine et surtout la 5-hydroxy-tryptamine (79-38-93) qui est un protecteur remarquable, bien que totalement dépourvu de soufre.

- les résultats obtenus avec l'histamine (83), l'adrénaline (71), la noradrénaline sont très variables suivant les auteurs.

- l'épinéphrine, la pyridoxine (39), l'acétylcholine, l'atropine, la dibenzylamine n'ont aucune action. Il semble cependant que d'après les travaux parus en 1962 (98) les amines et les amides conservent une place importante parmi les composés étudiés en radioprotection, soit seules, soit associées à différentes substances.

3°) Composés hydroxylés :

Parmi les composés renfermant un groupement -OH et dont on a testé l'activité radioprotectrice, se trouvent des substances très variées mais dont l'efficacité est toujours assez faible.

L'étude de nombreux sucres n'a pas apporté de résultats très intéressants ; le glucose est peu actif mais le fructose parait posséder des propriétés plus probantes (80% de protection).

Les alcools simples sont inactifs, cependant l'éthanol offre une très légère protection ; la glycérine et le propylène glycol ont également une faible activité.

Les phénols paraissent avoir une action supérieure mais ils sont particulièrement toxiques. Les travaux de LACASSAGNE, DUPLAN et BUUHOI (74) ont permis cependant de mettre en évidence des composés polyphénoliques et des dérivés du naphtol possédant une activité notable.

4°) Composés anoxémiants :

Ces substances susceptibles de provoquer de l'anoxie chez les animaux, appartiennent à des classes très différentes. Il faut citer les cyanures (23-20-85-31) qui à doses très faibles se sont révélés radioprotecteurs et ont été étudiés par BACQ et ses collaborateurs en 1949. Cependant les résultats n'ont pas été retrouvés par d'autres auteurs chez les rats et les grenouilles. Le malonitrile (23), qui libère du cyanure dans l'organisme, possède également une bonne activité. Notons également, parmi les nitriles, l'efficacité de l'hydroxyacetonitrile. Le nitrure de Na(Na_3N) peut, comme le cyanure, inhiber certains enzymes (cytochromoxydase, catalase, peroxydase, catecholoxydase) et il possède une légère activité chez la souris.

En ce qui concerne le CO (34), il apparait assez efficace mais malgré de nombreuses recherches (BONNET-MAURY et ses collaborateurs, KING et ses collaborateurs, GRAY)

son action n'est pas clairement établie. Le gaz carbonique est inefficace.

Il faut mentionner ici également les substances méthémoglobinisantes qui se sont révélées difficilement utilisables ; nous ne citerons que la paraaminopropiophénone et le nitrite de Na.

Malheureusement, ces substances ont un intérêt surtout théorique car, la dose toxique étant extrêmement voisine de la dose protectrice, leur utilisation devient de ce fait très délicate.

5°) Composés divers :

Il faudrait citer ici, pour être complet un nombre impressionnant de composés allant du lycopène à l'huile d'olive (17) en passant par le salicylate de Na, les acides organiques, le magnésium, l'acide ribonucléique et certains agents chélatants (97). Mais nous ne procéderons pas à cette énumération fastidieuse car aucun de ces corps n'offre à l'heure actuelle de propriétés radioprotectrices exceptionnelles.

On peut seulement ajouter aux substances que nous venons de voir un autre groupe de composés intéressants car ils agissent en produisant des modifications physiologiques ; jusqu'ici tous les produits mentionnés n'étaient actifs qu'utilisés en injection intrapéritonéale ou intraveineuse quelques minutes avant irradiation. Il n'en est pas de même des composés de ce groupe.

- l'extrait parathyroïdien protège lorsqu'il est administré 12 à 18 heures avant l'irradiation et est encore actif s'il est administré après l'irradiation (RIXON 1958).

- le largactil, à la dose de 5 mg/kg est efficace surtout s'il est injecté 4 heures avant l'irradiation, celle-ci ayant lieu lorsque l'hypothermie est maximale.

- la réserpine (4 mg/kg) administrée 24 heures avant l'irradiation augmente de façon appréciable la durée de survie des souris. Il faut signaler que cette substance libère de la 5-hydroxytryptamine dans certains tissus et provoque chez la souris une hypothermie de longue durée.

- le fluoroacétate, étudié par BACQ (24), donne une protection maximale 2 à 5 heures après l'injection, c'est-à-dire quand la concentration en citrate est la plus élevée et la température la plus basse. L'hypothermie par elle-même semble sans importance.

- le fluorocitrate augmente de façon plus rapide la concentration en citrate, et la protection est maximale 30 minutes après l'injection.

Il faut ajouter à ces substances possédant une activité pharmacologique certaines hormones, vitamines, antibiotiques (100) et alcaloides (71) dont l'étude n'a pas apporté jusqu'à maintenant de résultats très intéressants. Cependant l'administration simultanée de plusieurs des substances que nous venons de citer conduit quelquefois à une activité protectrice bien supérieure à celle de chaque composé pris séparément. On est donc conduit à penser que les recherches entreprises dans ce sens pourront donner des résultats encourageants.

C H A P I T R E I I I

MECANISME D'ACTION DES RADIOPROTECTEURS

Après l'énumération rapide que nous venons de faire des principaux composés considérés comme des radioprotecteurs quelques remarques s'imposent. Nous sommes tout d'abord frappés par le nombre très important, et qui augmente sans cesse, de substances auxquelles on prête des propriétés radioprotectrices plus ou moins prononcées, bien qu'en fait un très petit nombre d'entre elles seulement soient réellement très efficaces.

Mais le fait le plus étonnant est la diversité extraordinaire de ces composés tant du point de vue de leur structure chimique que de leurs propriétés physiques, chimiques ou pharmacologiques. Aucune relation n'a pu être trouvée entre tous ces produits qui paraissent agir de façon différente, et dans des conditions qui sont particulières à chaque groupe.

Par suite nous ne serons pas étonnés de l'existence d'un nombre important de théories ou d'hypothèses ayant pour but d'expliquer le mécanisme général d'action des radioprotecteurs.

Eliminons tout d'abord une hypothèse déjà ancienne et abandonnée depuis longtemps qui voulait lier l'action radioprotectrice à la toxicité des substances. S'il est évident qu'un certain nombre de radioprotecteurs sont extrême-

ment toxiques, ou actifs à des doses voisines de la dose toxique (cyanure, thiourée, acide formique, et acétique, noradrénaline), d'autres sont actifs et non toxiques et enfin de nombreuses substances toxiques n'ont aucun effet protecteur. Il faut cependant signaler qu'en 1955, HAGEN et KOCH (77), s'appuyant sur les travaux de VAN BEKKUM et de GROOT (30) ont démontré que dans la série des thiocarbamates, la toxicité augmentait parallèlement à la protection avec les substitutions depuis le monométhyl au diméthyl-diéthyldithiocarbamate.

Une seconde hypothèse, admise pendant longtemps, établissait que l'effet radioprotecteur était lié au caractère réducteur du composé. Effectivement de nombreux radioprotecteurs, excellents chez les mammifères, sont des réducteurs plus ou moins puissants : cystéine, cystéamine, glutathion, diéthyldithiocarbamate, 5-hydroxytryptamine. Mais par contre de nombreux réducteurs, même physiologiques, ne sont actifs : acide ascorbique, ergothionéine ... Il paraît bien établi actuellement que le pouvoir réducteur d'une substance n'est pas un critère suffisant pour lui conférer des propriétés radioprotectrices.

Une autre opinion, qui fut également très répandue, est l'importance essentielle accordée aux fonctions sulfhydriles (52). A la suite d'expériences in vitro démontrant l'oxydation des -SH par les radiations ionisantes dans la cystéine, le dimercaptopropanol et les enzymes à -SH, BARON a émis en 1948 (27) une théorie selon laquelle la lésion primordiale des radiations ionisantes in vitro était l'inactivation des -SH des enzymes. La réactivation in vitro de ces enzymes par la cystéine, et l'effet protecteur présenté par de nombreux dérivés sulfhydrilés, a incité certains radiobiologistes à voir là le mécanisme

fondamental de l'action des radiations. Les expériences faites par la suite n'ont pas confirmé cette sensibilité spéciale du système enzymatique sulfhydrile, et de plus ont démontré que ce processus ne pouvait en aucun cas, être le seul mécanisme de la radioprotection. On a en effet objecté en particulier que :

- la réactivation n'a jamais pu être obtenue in vitro
- de nombreuses substances radioprotectrices ne réactivent pas les enzymes -SH tandis que de nombreuses substances non radioprotectrices réactivent ces enzymes
- la quantité de fonctions -SH oxydées par une irradiation mortelle ne peut suffire à expliquer cette mort
- on a démontré également que dans la molécule de cystéamine, la substitution de certains radicaux sur l'azote était néfaste à son action de même que la présence de COOH sur le carbone 2 et pourtant dans les deux cas, le groupe -SH restait libre. Il est donc impossible d'affirmer que l'activité radioprotectrice est liée uniquement à la présence d'une fonction -SH. Nous avons donné précédemment l'exemple de nombreux composés actifs bien que dépourvus de ce groupement.

Après avoir éliminé certaines hypothèses concernant le mécanisme de la radioprotection, et malgré les nombreuses études consacrées à la question, plusieurs théories restent encore en compétition actuellement.

Avant de les énumérer, voyons quels sont les principes généraux que l'on doit garder à l'esprit quand on examine ce problème.

Comme nous l'avons dit précédemment, la première étape quand un système biologique est exposé aux radiations ionisantes est l'utilisation de l'énergie absorbée dans une

réaction chimique. Cette action, provoque des modifications dans les macromolécules biologiques et le résultat final est une lésion décelable ; les étapes intermédiaires ne sont en fait pas observables in vivo. Si l'on admet ce processus, il y a en principe trois méthodes générales pour protéger contre les lésions chimiques initiales, et elles peuvent être qualifiées de physicochimiques, par opposition à la protection physiologique dont l'action se situe à un stade ultérieur :

I) - Une substance peut être utilisée pour orienter la conversion de l'énergie reçue dans une voie produisant moins de modifications chimiques chez les molécules vitales (compétition avec les constituants cellulaires pour les radicaux libres ou autres substances réactives produites par les rayonnements).

II) - Une substance surajoutée peut réparer les lésions produites dans une macromolécule immédiatement après la lésion primaire, et avant qu'une modification irréversible ne se produise. Dans ce cas, vu la rapidité des réactions, la substance doit être présente pendant l'irradiation.

III) - La protection du groupe vulnérable de la molécule (par exemple : le groupe prosthétique d'un enzyme) peut être réalisé par une substance liée à ce groupe et qui peut être détachée par irradiation.

Compte tenu de ce que nous venons d'exposer et des résultats des nombreux travaux qui ont été consacrés ces dernières années à cette question, trois théories ont gardé toute leur importance à l'heure actuelle : tout d'abord les protecteurs peuvent entrer en compétition avec les molécules biologiques pour la capture des radicaux libres, nés de l'irradiation ; deuxièmement, ils peuvent agir en se fixant sur les points fragiles des molécules biologiques

et les protéger ainsi contre les rayonnements ; et enfin ils peuvent provoquer, par l'abaissement de la tension d'oxygène intracellulaire une anoxie locale temporaire : en effet la protection obtenue avec les protecteurs chimiques est du même ordre de grandeur que celle obtenue par la réduction de la tension d'oxygène.

1°) - Théorie des radicaux libres

Cette hypothèse avancée par BACQ et ALEXANDER il y a quelques années soutient que dans le cas de l'irradiation en présence d'oxygène, (ce qui est le cas le plus fréquent pour les mammifères), le mécanisme serait le suivant (d'après BACQ (1)) :

L'irradiation de l'eau, produit des radicaux libres $H^•$ et $OH^•$, ainsi que des radicaux $HO_2^•$ en présence d'oxygène moléculaire.

Ces radicaux sont rapidement capturés, soit par les constituants cellulaires, soit par les agents protecteurs quand ils sont présents. Cette compétition pour les radicaux libres peut expliquer la protection des molécules biologiques.

On peut envisager également, toujours d'après BACQ, que la présence d'oxygène provoque la formation à partir d'un radical libre instable $R^•$ d'un radical peroxyde $ROO^•$ instable. Le protecteur agissant sur $R^•$ ou sur $ROO^•$ donnerait une molécule stable.

Pour étayer leur théorie, un vaste travail de recherche a été entrepris par les auteurs, simultanément in vivo chez la souris et in vitro avec l'acide poly-

méthacrylique (P.M.A.). Les résultats obtenus ont montré une remarquable similitude entre les deux systèmes, ce qui tendrait à prouver que le mécanisme de protection en cause est le même dans les deux cas.

L'étude de ce mécanisme in vitro avec le PMA les a amené à conclure :

a) - que les radicaux $HO_2^•$ jouent un rôle important dans la dégradation des polymères.

b) - que les agents chimiques agissent soit en entrant en compétition avec le polymère pour la capture des radicaux libres soit en se combinant avec le radical polymère instable avant qu'il ne se décompose.

Malheureusement, il est très difficile d'avoir actuellement une preuve directe de la validité de cette hypothèse in vivo, mais l'on peut supposer, avec BACQ, que l'apparition de nouvelles techniques, en particulier des techniques de résonance paramagnétique, ou l'étude plus poussée de certains processus radicaliques in vitro (45) permettront d'avancer dans ce domaine.

Mais cette théorie de protection par capture de radicaux libres, si elle est admise par de nombreux auteurs se voit opposer d'autres mécanismes.

2°) - Théorie des disulfures mixtes

Cette théorie émise par ELDJARN et PIHL (57) ne s'applique évidemment qu'aux radioprotecteurs possédant un -SH mais elle a fourni des indications intéressantes sur le métabolisme de ces composés.

Même si l'on admet que la cystamine est bien capable d'inactiver les radicaux libres, on peut calculer que son action ne portera que sur quelques pour-cent des radicaux formés ; alors qu'en fait, le facteur de réduction de dose étant de 2 environ elle devrait inactiver au moins 50% des radicaux libres formés. La concentration en cystamine dans les tissus particulièrement sensibles ne peut pas non plus expliquer une telle protection. Les auteurs ont donc étudié l'intéraction possible de la cystamine avec les constituants cellulaires possédant des groupes sulfhydriles ou des ponts disulfures. Le résultats de ces expériences montre que la cystamine se fixe rapidement in vivo sur les protéines sériques et sur l'hémoglobine, et peut-être sur les enzymes ; cette fixation se fait grâce aux groupes -SH protéiques. Cette liaison a été très étudiée par différentes équipes de chercheurs et ils admettent la formation d'un disulfure mixte temporaire entre la protéine et le radioprotecteur, disulfure qui, attaqué, redonne des -SH des acides sulfoniques ou sulfiniques. On obtient donc la restauration de certains groupes -SH ou -S-S- de la protéine dont une partie a été ainsi protégée.

ELDJARN rapporte que le nombre de groupes -SH protéiques détruits par action indirecte est réduit d'un facteur 2, ce qui concorderait avec la protection maximum atteinte chez les mammifères, et qui correspond à une réduction d'un facteur 2 de la dose.

A la suite de leurs travaux, ELDJARN et PIHL concluent que l'effet protecteur de la cystamine ne peut être expliqué entièrement par la théorie de la capture directe des radicaux libres ou du moins, que ce mécanisme n'agit pas seul. Pour eux, en effet, les substances protectrices sulfhydrilées agissent en modifiant la nature du récepteur

biologique, mais cette théorie n'est valable que dans un domaine bien restreint puisqu'elle ne s'applique qu'à des protecteurs sulfhydrilés vis à vis d'un substrat protéique lui-même sulfhydrilé.

Cependant certains auteurs s'élèvent contre cette théorie et n'admettent pas que le protecteur agisse sous forme disulfure. Ils ont démontré que les protecteurs les plus actifs sont ceux dont le -SH est le plus réactif et non pas les disulfures. Ils sont d'accord pourtant avec l'idée qu'une certaine quantité de protéines sulfhydrilées peut être masquée par le protecteur.

On oppose également à cette hypothèse des disulfures mixtes un certain nombre d'objections importantes à savoir que :

- le DNA, qui est radiosensible, est protégé in vitro par la cystéamine, or il ne contient pas de groupements soufrés qui sont, d'après cette théorie, les points sensibles attaqués par l'irradiation et susceptibles de former des disulfures mixtes.
- de plus certains composés soufrés formant aisément des disulfures mixtes ne sont pas radioprotecteurs. Pour ELDJARN ceci est dû à la non pénétration de ces substances dans les cellules des tissus.
- enfin cette théorie explique mal que la présence d'un excès d'oxygène fasse disparaitre la protection obtenue avec la cystéamine chez les bactéries (MARCOVICH (1)).

3°) - <u>Théorie de l'anoxie</u>

Dès 1942, LACASSAGNE (73) avait montré que l'anoxie augmentait la survie de souris ayant reçu une dose léthale de Rayons X. De nombreuses expériences de GRAY (14);

SCOTT, PATT, HOLLAENDER, MARCOVICH sont venues confirmer ce phénomène, et pour un nombre important de chercheurs, la radioprotection chimique équivaut à une privation d'oxygène. Mais nous verrons que cette théorie, comme celles que nous venons d'énumérer, comporte des cas où cette conception est en défaut.

HOLLAENDER et STAPLETON en 1955 (10), ont montré en utilisant des suspensions d'E. Coli que les composés susceptibles d'utiliser de l'oxygène sont protecteurs vis à vis de ces microorganismes.

Pour ces auteurs on peut admettre en règle générale que la majorité des composés capables d'utiliser l'oxygène, s'ils ne sont pas nuisibles à l'organisme, augmentent la résistance aux rayonnements. Certains produits agissent en éliminant ce gaz de la suspension bactérienne, d'autres le chassent de l'organisme lui-même. La présence de groupes -OH ou $-NH_2$ permet à ces agents de pénétrer à l'intérieur de la cellule ainsi les sucres et les alcools utilisant pour leur métabolisme à la fois l'oxygène intra et extracellulaire créent dans la cellule des conditions anoxiques. Ceci peut être démontré par l'addition de cyanure, qui inhibant le catabolisme des alcools, diminue leur effet protecteur. Mais ce phénomène n'a pas été vérifié pour tous les protecteurs (ex. cystéine).

A propos des alcools carboxyliques HOLLAENDER et ses collaborateurs ont également émis l'hypothèse que ces composés peuvent agir en évitant le blocage enzymatique du cycle de Krebs ; mais ces produits n'étant pas actifs après irradiation, cela élimine cette hypothèse.

Malgré l'importance accordée par HOLLAENDER à cette théorie de l'anoxie celui-ci admet, en ce qui concerne la cystéine et les produits sulfhydrilés, que chez E. Coli la privation d'oxygène n'explique pas complétement le mécanisme protecteur et il envisage deux possibilités :

- compétition pour la capture des radicaux libres
- restauration de produits détruits par l'irradiation.

Chez les mammifères on observe également avec la cystéamine et la cystamine à dose élevée une désaturation en oxygène du sang veineux, ce qui parait due à une circulation sanguine très ralentie (BACQ).

PATT et ses collaborateurs ont soutenu également l'hypothèse selon laquelle les protecteurs chimiques agissent en enlevant l'oxygène à l'intérieur des cellules. L'anoxie tissulaire temporaire produite serait un facteur de protection très important chez les mammifères.

Les auteurs basent leur argumentation sur les faits suivants :

1) - Le degré de protection n'est pas uniquement fonction de la concentration en -SH.

2) - La cystéine est moins active ou inactive dans certaines expériences pratiquées en absence d'oxygène, l'influence de la tension de ce gaz est donc indiscutable. Mais BACQ objecte que la cystéine agit sur les radicaux $HO_2^{\bullet}$, or ceux-ci ne se formant qu'en présence d'oxygène, il est évident qu'il existe une relation entre ces deux phénomènes.

PATT avait également avancé l'idée que la cystamine agissait par l'intermédiaire de l'histamine qui provoquerait une chute de l'oxygène par hypotension, mais cette

idée est combattue par le fait que la cystamine est meilleur protecteur que l'histamine elle-même, et qu'elle est active per os alors que l'histamine n'intervient plus.

VAN BEKKUM et DE GROOT (14) ont étudié un certain nombre de protecteurs chimiques (actifs chez la souris) sur des cellules de mammifères isolées in vitro. Les amines biologiques actives in vivo, sont inactives in vitro, ce qui est en désaccord avec une protection due à la capture des radicaux libres. Cette protection parait due plutôt à la production d'un état d'hypoxie tissulaire général de l'organisme. Ceci rejoint les travaux de GRAY tendant à prouver que l'effet protecteur des amines vasoconstrictrices résulte de l'anoxie tissulaire provoquée.

Cependant l'efficacité chez les mammifères de certaines amines non vasoconstrictrices qui sont actives également in vitro sur le polyméthacrylate s'oppose à cette hypothèse.

Il faut signaler également une différence fondamentale existant entre l'action de la cystéine et du glutathion d'une part, et de la cystéamine et des diethyldithiocarbamates d'autre part, Les premiers provoquent une augmentation de la consommation en oxygène des suspensions tissulaires, phénomènes que l'on ne retrouve pas avec les derniers. Ce phénomène inexpliqué illustre la complexité de l'action des différents produits.

Cette théorie se révèle donc d'après DOHERTY (9) extrêmement fructueuse en ce qui concerne l'exploration du mécanisme de la radioprotection, mais l'anoxie elle-même offre peu d'avantages pratiques étant donné le faible écart existant entre la dose utile et la dose toxique des pro-

duits utilisables.

Des nombreuses hypothèses émises pour tenter d'élucider le mécanisme d'action des radioprotecteurs, nous n'avons rapporté que les principales et il est bien évident que l'accord est loin d'être réalisé entre les différentes équipes de chercheurs penchés sur ce problème. Les contradictions flagrantes que nous avons pu relever au cours de l'exposé que nous venons de faire des théories actuelles, les preuves solides que nous avons rapportées et qui soutiennent souvent des thèses opposées, le désaccord entre des résultats trouvés pour une même expérience faite par des chercheurs différents, tout cela montre l'évolution de cette question et le travail important qui reste encore à faire.

Certains auteurs se posent même la question de savoir si les agents chimiques réduisent l'action néfaste des rayonnements, ou bien stimulent la régénération des tissus atteints.

Nous pouvons aussi nous demander, à la lumière de ce que nous venons de voir, s'il est raisonnable de vouloir trouver un mécanisme et un seul, expliquant l'action de substances radioprotectrices extrêmement différentes, tant au point de vue propriétés chimiques que pharmacologiques et agissant in vivo sur des organismes aussi complexes que des êtres vivants. Et par suite, tout en nous gardant bien d'apporter une conclusion à ce débat qui continue d'opposer des équipes de chercheurs du monde entier, il apparait plus vraisemblable d'admettre, bien que cela soit moins satisfaisant pour l'esprit, que différents mécanismes puissent agir conjointement.

D E U X I E M E   P A R T I E

TRAVAUX PERSONNELS

L'étude systématique d'un très grand nombre de produits chimiques de structure très variée, si elle n'a pas toujours conduit à la découverte de composés à activité protectrice intéressante, à bien souvent permis d'obtenir de précieux renseignements soit sur la structure chimique indispensable ou non aux protecteurs, soit sur la valeur de certaines théories émises au sujet de leur action.

Dans le cadre de cette recherche systématique il nous a paru intéressant de poursuivre l'étude de l'activité radioprotectrice de certaines 5-thione-imidazolidines que nous avions entrepris en 1959 avec J. DARDELET (49) et de la compléter en étendant ces recherches à des composés voisins dérivés également de l'imidazole.

Le choix de ces substances a été dicté par notre désir de faire apparaitre, si possible des relations entre la structure et l'activité de ces produits. Les points sur lesquels nous avons plus particulièrement porté notre attention sont : l'importance d'une substitution soufrée sur le noyau imidazole, la position de cette substitution, le remplacement de l'atome de soufre par un oxygène, et l'influence de différentes substitutions methyles ou phenyles sur les thione-imidazolines ou les imidazolinones précédentes.

Pour l'étude des propriétés protectrices de ces composés, différentes méthodes pouvaient être utilisées. Il est bien établi à l'heure actuelle que les variations et même les contradictions relevées dans les travaux de différents groupes de chercheurs sont dues à la grande diversité des techniques d'irradiations et de dosimétrie utilisées, ainsi qu'au choix et à la manipulation des animaux employés. Il nous a donc paru nécessaire de définir un protocole expérimental précis en tenant compte des impératifs et des remarques qui se dégagent des nombreux articles consacrés à la radioprotection chimique.

Aussi après la présentation des produits étudiés, la description de leur synthèse et l'étude de leur toxicité nous décrirons en détail les tests utilisés pour la détermination de l'action protectrice de ces composés et les résultats obtenus.

CHAPITRE IV

LES COMPOSES ETUDIES

Les composés étudiés, au nombre de huit, peuvent se répartir en 4 groupes :

1°) l'imidazole (a) représentant le noyau de base à partir duquel dériveront par substitution tous les composés suivants

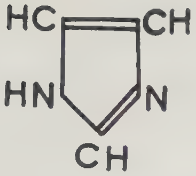
2°) les 2-imidazolinones possédant un groupement carbonyle en position 2 : ce sont :
- la -2-imidazolinone (b)
- la -4-methyl-2-imidazolinone (c)

3°) les 2-thione-imidazolines où l'atome d'oxygène précédent est remplacé par du soufre :
- la 1-methyl-2-mercapto-imidazole ou Basolan (d) *
- la 4-methyl-2-thione-imidazoline (e)

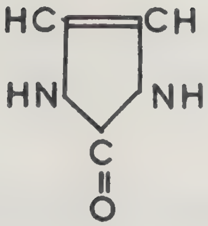
4°) les 5-thione-imidazolidines où le soufre est ici sur le carbone 5, tandis que différentes substitutions par des groupements phenyl et methyl ont été réalisées en 2 ou en 4. Ces composés avec lesquels nous avions eu des résultats légèrement positifs, ont été repris dans le cadre de ce travail général

* Obligeamment fourni par les laboratoires DIAMANT

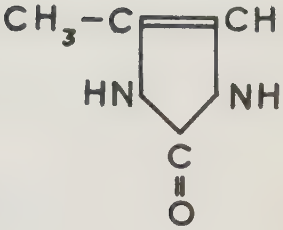
a)



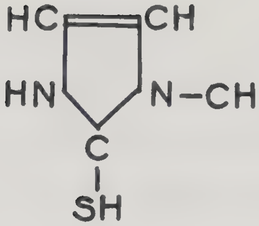
b)



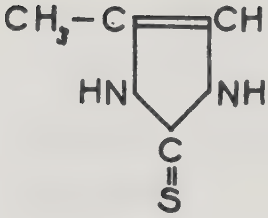
c)



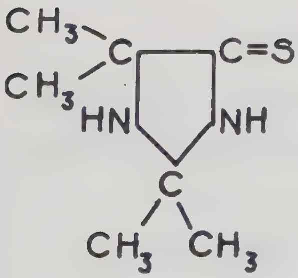
d)



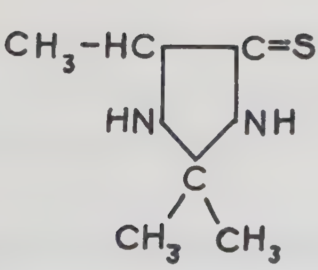
e)



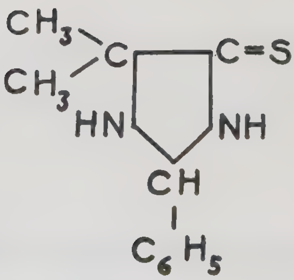
f)



g)



h)



afin d'être comparés aux produits précédents. Ce sont la 2.2.4.4.-tétramethyl-5-thione-imidazolidine (f), la 2.2.4.-trimethyl-5-thione-imidazolidine (g), la 2-phenyl-4.4-dimethyl-5-thione-imidazolidine (h).

A- SYNTHESE DES COMPOSES ETUDIES

Parmi les huit composés étudiés, 2 seulement, l'imidazole et le Basolan existent dans le commerce et par suite nous avons du réaliser la synthèse des 6 autres composés.

Pour cela nous nous sommes référés aux travaux récents de A. BOUCHERLE sur les imidazolinones et imidazoline-thiones, ainsi qu'à des travaux allemands et américains, en particulier ceux de WOHL et MARCKWALD, GATEWOOD et JOHNSON, DUSCHINSKY et DOLAN, ELLINGER et GOLDBERG.

Pour les imidazolinones, la 2-imidazolinone a été obtenue par condensation de l'urée et de l'acide hydroxy-maléique tandis que la 4-methyl-2-imidazolinone est préparée par réaction entre l'acide cyanique et une alpha-amino-cétone.

En ce qui concerne la 4-methyl-2-thione-imidazoline, elle a été obtenue par condensation d'une alpha-amino-cétone avec l'acide thiocyanique.

Pour les 5-thione-imidazolidines leur synthèse s'opère en deux temps et suivant le même principe pour les 3 composés ; des modifications de détails seront utilisés suivant la nature des substitutions :

1er temps : préparation d'un aminonitrile substitué par action de l'acide cyanhydrique sur de l'ammoniac en présence d'une cétone.

2ème temps : cyclisation et sulfuration de l'aminonitrile avec une cétone et de l'hydrogène sulfuré en présence de pyridine.

Le mode opératoire détaillé de chacune de ces synthèses est décrit ci-dessus, ainsi que les différentes réactions nécessaires à l'identification ou au contrôle de pureté des produits synthétisés.

I - 2-IMIDAZOLINONE

1°) Synthèse :

Nous avons utilisé la méthode de DUSCHINSKY et DOLAN (35-56) par décarboxylation de l'acide 2-imidazolinone-4-carboxylique.

a) préparation de l'acide 2-imidazolinone-4- carboxylique.

Dans un ballon de 2 litres muni d'un agitateur mécanique et d'un thermomètre on place 400 g d'acide sulfurique à 20% d'anhydride, et on refroidi à 0°. On ajoute 112 g d'acide tartrique (0,75 M) sans que la température intérieure dépasse 10°. On enlève le bain de glace et on ajoute très lentement 92 g d'urée. La température monte à 80° et on la maintient à ce niveau pendant 30 minutes. On observe un dégagement gazeux de CO et CO_2.

On laisse refroidir en agitant et on verse le liquide noirâtre sur 1200 g de glace. Il se forme un précipité brunâtre qui après quelques heures est essoré, lavé à l'eau et séché dans le vide. On le purifie par cristallisation dans 20 parties d'eau bouillante additionnée de noir animal. Par refroidissement le produit pur se sépare.

b) préparation de la 2-imidazolinone.

Dans un tube de verre muni d'une tubulure latérale reliée à la trompe à vide, on place 1 g d'acide précédent et 3 g de poudre de cuivre réduit. Dans l'axe du tube on fixe un deuxième tube dans lequel on établit une circulation d'eau. Le tube extérieur est chauffé à 250° au bain de sable et la 2-imidazolinone se sublime sur les parois du tube intérieur. Après 30 minutes à 250°, on augmente le chauffage à 300° en 1 heure et on chauffe encore 15 minutes. On laisse refroidir et on recueille l'imidazolinone sur les parois du tube. Elle est purifiée par recristallisation dans l'eau chaude.

2°) <u>Contrôle analytique</u> :

- Dosage d'azote (methode de KJELDAHL)
  Azote calculé = 32,33 %
  Azote trouvé = 32,90 %

- Caractères analytiques
  - aiguilles blanc-jaunâtre
  - soluble dans l'eau, peu dans l'alcool
  - insoluble dans les solvants organiques
  - point de fusion = 250°
  - en solution aqueuse, le $FeCl_3$ donne une coloration rouge, HCl et H_2O_2 une coloration rose
  - $AgNO_3$ ammoniacal est réduit même à froid

-l'acide diazosulfanilique et le Na_2CO_3 donne une coloration rouge intense
-la réaction colorée très sensible avec les sels ferriques semble liée à l'existence du groupe carbonyle sous forme enolique.

II - 4-METHYL-2-IMIDAZOLINONE

1°) Synthèse :

Ce composé a été préparé selon la méthode de WOHL et MARCKWALD (35-107) par condensation du chlorhydrate d'aminopropanone et de l'acide cyanique.

La préparation du chlorhydrate d'aminopropanone sera donnée lors de la préparation de la 4-methyl-2-thione imidazoline.

On chauffe pendant 5 minutes à l'ébullition le chlorhydrate d'aminopropanone (11 g), l'acide chlorhydrique 5N (15 ml) et la cyanate de potassium (12 g). Par refroidissement il se sépare des cristaux jaune clair que l'on essore et lave avec 2 ml d'eau glacée. On purifie le composé par recristallisation dans quelques ml d'eau.

2°) Contrôle analytique :

- Dosage de l'azote (methode de KJELDAHL)
  Azote calculé = 28,57 %
  Azote trouvé = 28,0 %
- Caractères analytiques
  -aiguilles blanches, brillantes
  -soluble dans l'eau, l'alcool

- en solution aqueuse, HCl et H_2O_2 donnent une coloration rose
- en solution aqueuse $FeCl_3$ donne une teinte rouge
- l'acide diazosulfonilique et le Na_2CO_3 donnent une coloration rouge
- le $AgNO_3$ ammoniacal est réduit lentement à froid.

III - 4-METHYL-2-THIONE-IMIDAZOLINE

1°) Synthèse :

Elle est obtenue par condensation du chlorhydrate d'aminopropanone sur l'acide thiocyanique.

a) préparation du chlorhydrate d'aminopropanone

Elle est réalisée par hydrolyse chlorhydrique de la phtalimidoacétone d'après la méthode générale de GABRIEL, revue par ELLINGER. On chauffe à 125° un mélange de monochloracétone (92,5 g) et de phtalimide de potassium (150 g) dans du xylène (260 ml) pendant 2 heures. Après évaporation du xylène la phtalimidoacétone, purifiée dans l'éthanol, cristallisée en aiguilles jaune pâle (P.F. = 120°) est hydrolysée au reflux en présence d'une solution alcoolique d'acide chlorhydrique. L'acide phtalique est éliminé par précipitation et le chlorhydrate d'aminopropanone est récupéré par évaporation sous pression réduite à 50° (P.F. = 80°). La monochloracétone nécessaire à cette synthèse est préparée extemporanément par chloruration de l'acétone à 60° en présence de marbres en grains sous un courant de chlore naissant sec. Elle est distillée sous pression réduite - (P.E. = 116° à 745 mm de Hg).

b) préparation de la 4-methyl-2-thione-imidazoline

On chauffe 2 heures au bain-marie bouillant 5,5 g de chlorhydrate d'aminopropanone et 5 g de sulfocyanate de potassium et 10 ml d'eau. Par refroidissement la 4-methyl-2-thione-imidazoline se sépare en cristallisant. Elle est purifiée dans l'eau.

2°) <u>Contrôle analytique</u> :

- Dosage de l'azote (methode de KJELDAHL)
  - Azote trouvé = 24,29 %
  - Azote calculé = 24, 56 %
- Dosage du soufre (methode de GNEUIL)
  - Soufre calculé = 28,07 %
  - Soufre trouvé = 27,27 %
- Caractères analytiques
  - point de fusion = 242°
  - soluble dans l'eau, le methanol et l'éther
  - en solution aqueuse, elle présente une réaction acide aux indicateurs colorés
  - en solution ammoniacale, elle donne une coloration bleue avec le réactif phosphomolybdique
  - en solution ethanolique on observe une décoloration de l'iode et du brome
  - l'acide diazosulfanilique en présence de carbonate de sodium donne une coloration rouge intense
  - la formation presque quantitative de mercaptides témoignant de la prédominance de la forme énol de ce composé.

IV - 2.2.4.4.-TETRAMETHYL-5-THIONE-IMIDAZOLIDINE

1°) Synthèse :

a) préparation de l'isobutyro-aminonitrile

Dans 250 ml d'eau chaude on dissout 54 g de NaCN, puis ayant refroidi sous courant d'eau on ajoute 73 g de $(NH_4)_2SO_4$; on verse alors dans un vase à fusion de 1 litre on ajoute 48 g d'acétone et ayant bouché rapidement le récipient on abandonne à la température du laboratoire pendant 4 jours en agitant de temps en temps.

On filtre ensuite les sels minéraux en excès sur verre fritté et l'on extrait le liquide par environ 10 fois 100 ml d'éther éthylique ; les solutionsd'extraction sont réunies et désséchées pendnnt 12 heures sur Na_2SO_4 fondu. L'éther est éliminé par distillation au bain-marie, l'aminonitrile est ensuite distillé sous colonne de Vigreux.

b) sulfuration et cyclisation

Dans un erlenmeyer on verse 50 ml d'acétone, 8 ml $OHNH_4$ et 8,4 g d'isobutyro-aminonitrile fraichement préparé. En refroidissant avec de la glace on fait passer pendant 6 heures un courant de SH_2 désséché sur $CaCl_2$. L'erlenmeyer, bien bouché est placé dans la glacière pendant 24 heures.

Ensuite les solvants sont éliminés par distilla-tion au bain-marie dans le vide jusqu'à obtention d'un résidu de consistance huileuse où apparait déjà quelques cristaux. On fait cristalliser dans la glace puis on essore sur verre fritté ; on lave les cristaux à l'éther éthylique, on dissout dans un minimum de benzène chaud et ensuite on refroidit jusqu'à cristallisation complète.

2°) Contrôle analytique :

- Avec le $AgNO_3$ ammoniacal on obtient un précipité jaunâtre qui noircit et se transforme en chauffant en AG_2S.

- Avec une solution aqueuse de $HgCl_2$ on obtient un précipité blanc d'un mercaptide de mercure soluble dans l'éther éthylique.

- Avec une solution aqueuse de $CuSO_4$ on obtient également un mercaptide de cuivre qui se détruit à chaud en donnant CuS qui précipite.

- L'eau de brome et une solution aqueuse au 1/100 de $KMnO_4$ sont décolorées.

- La réaction de LAUBIE est positive après 2 jours d'attente. A 1 cm^3 de solution environ au millième, on ajoute 0,3 ml de nitroprussiate de Na à 5 % et 0,5 cm^3 de NaOH N ; après mélange, on tamponne le milieu par un très gros excès (1 g) de $HNaCO_3$; on attend quelques minutes en agitant de temps en temps. Des teintes brun verdâtre transitoires font place à une coloration violette.

- Dosage d'azote (méthode de KJELDAHL)

Pourcentage calculé = 17,7 %

Pourcentage trouvé = 17,8 %

- Dosage du soufre (méthode de GNEUIL)

Pourcentage calculé = 20,25 %

Pourcentage trouvé = 19,9 %

- Détermination de la masse moléculaire (méthode de RAST)

Masse moléculaire trouvée = 148

- Comme les 2-thiones, les 5-thione-imidazolidines présentent toutes les réactions classiques des thiols.

V - 2.2.4.-TRIMETHYL-5-THIONE-IMIDAZOLIDINE

1°) Synthèse :

a) préparation de l'aminopropionitrile

On plonge un vase à fusion dans un bain de glace, et on introduit 72 g de NH_4Cl et 64 g de NaCN dissout à chaud dans un minimum d'eau distillée et refroidi sous courant d'eau. On bouche hermétiquement avec un large bouchon de liège muni d'une ouverture par laquelle on ajoute à l'aide d'une ampoule à brome 50 g de CH_3CHO. Le mélange est laissé à la température ambiante 3 ou 4 jours, puis on filtre les sels minéraux. On extrait ensuite par de l'éther éthylique qu'on laissera pendant 12 heures sur SO_4Na_2 désséché. L'éther est évaporé sous vide jusqu'à obtenir un résidu huileux que l'on utilisera directement pour la sulfuration.

b) sulfuration

Dans un erlen on introduit 12 g du nitrile préalablement obtenu, 40 g d'acétone et 7 ml de NH_4OH. On sulfure pendant 4 heures, puis l'erlen est bouché hermétiquement et laissé 4 jours au frigidaire. Par évaporation sous vide en chauffant très peu, on obtient un résidu visqueux qui est versé dans un cristallisoir plongé dans un bain de glace. On ajoute quelques morceaux de glace pilée en grattant les parois pour amorcer la cristallisation. On recristallise dans l'alcool éthylique.

2°) Contrôle analytique :

- Dosage de soufre (méthode de GNEUIL)

  Pourcentage calculé = 22,22 %

  Pourcentage trouvé = 22,35 %

- Dosage d'azote (méthode de KJELDAHL)
  - Pourcentage calculé = 19,4 %
  - Pourcentage trouvé = 20,4 %

- Détermination de la masse moléculaire (méthode de RAST)
  - Masse moléculaire trouvée = 144
  - Masse moléculaire calculée = 144

- Propriétés analytiques
  - -point de fusion = 163°
  - -cristaux insolubles dans l'eau et solubles dans les solutions diluées de HCl et NaOH
  - -réaction de LAUBIE postive
  - -MnO_4K 1/100 est décolorée
  - -$FeCl_3$ donne un précipité jaunâtre
  - -$HgCl_2$ donne un précipité blanc (mercaptide de mercure) qui se dissout dans l'éther.

VI - 2.-PHENYL-4.4-DIMETHYL-5-THIONE-IMIDAZOLIDINE

1°) Synthèse :

La synthèse se fait à partir de l'isobutyroaminonitrile dont nous avons vu la préparation par la 2.2.4.4. tetramethyl-5-thione-imidazolidine.

Dans un erlen on verse 12,5 g d'isobutyroaminonitrile qui vient d'être préparé, 200 ml d'éther éthylique, 16 g de benzaldéhyde distillé extemporanément et 8 ml de NH_4OH. Le mélange doit être fait en maintenant l'erlen dans la glace et en faisant commencer le dégagement de SH_2 immédiatement. Le dégagement gazeux doit être très faible. Toutes les opérations faites avec SH_2 comprimé en bouteille

n'ont donné aucun résultat. Il semble préféfable d'utiliser l'appareil de KIPP. L'erlen est maintenu 4 à 6 heures sous SH_2 et dans un bain de glace. SH_2 est désséché sur $CaCl_2$. L'erlen est conservé bien bouché au frigidaire 3 à 4 jours, le résidu qui doit être de consistance huileuse est versé dans un bécher contenant de l'éthanol chaud, le polymère du thiobenzaldéhyde précipite (F = 82°). On laisse reposer, puis l'éthanol est évaporé sous le vide de la trompe à eau en chauffant légèrement. On transvase le liquide dans un bécher, on le chauffe très peu, puis il est plongé dans un bain de glace. On introduit quelques morceaux de glace pilée dans le bécher, et on gratte avec un agitateur pour amorcer la cristallisation. On laisse reposer à la température du laboratoire quelques heures, puis on filtre. Le précipité recristallisé deux fois dans l'éthanol est séché à l'éther éthylique, et mis au dessicateur pendant la nuit. On procède aux analyses et on conserve le produit au dessicateur de préférence dans l'obscurité.

2°) Contrôle analytique :

- Dosage d'azote (méthode de KJELDAHL)
  - Pourcentage calculé = 13,6 %
  - Pourcentage trouvé = 13,86 %
- Dosage de soufre (méthode de GNEUIL)
  - Pourcentage calculé = 15,5 %
  - Pourcentage trouvé = 15,7 %
- Détermination de la masse moléculaire (méthode de RAST)
  - Masse calculée = 206
  - Masse trouvée = 209

- Propriétés analytiques
  - point de fusion au bain de mercure = 127°
  - cristaux insolubles dans l'eau, solubles dans les solutions diluées de HCl et NaOH
  - réaction de LAUBIE positive
  - apparition d'un précipité blanc avec l'eau de brome
  - une solution de MnO_4K 1/100 est décolorée
  - $FeCl_3$ donne un précipité jaunâtre
  - apparition avec $HgCl_2$ d'un précipité blanc (mercaptide de mercure) qui se dissout dans l'éther.

B - DETERMINATION DE LA TOXICITE DES COMPOSES ETUDIES

La détermination de la toxicité des composés qui seront étudiés comme radioprotecteurs est un point qui a retenu particulièrement notre attention car nous devons être assuré de ne pas modifier par des phénomènes de toxicité les résultats que nous attribuons à l'action des rayonnements.

La toxicité des produits étudiés a été déterminée par une méthode décrite initialement par DIXON et MOOD (50) et appelée par eux "Up and down method". Reprise en détail par KIMBALL, BURNETT et DOHERTY (70), cette méthode nous permet d'obtenir la dose pour laquelle 50 pour cent des animaux sont tués (DL 50) avec un nombre restreint d'animaux puisqu'un lot de 10 souris est suffisant.

Cette méthode consiste à faire une injection intrapéritonéale à un animal à une dose supposée proche de la DL 50 et déterminée préalablement par tâtonnement. Si l'animal meurt, un second animal est injecté à une dose inférieure s'il ne meurt pas le second sera injecté à une dose supérieure. Les doses utilisées sont choisies de façon à ce que les logarithmes de ces doses rapportées à une souris de 20 g aient des valeurs régulièrement espacées : l'intervalle entre les logarithmes de ces doses est constant et a été choisi égal à 0,080. On opère de la même façon sur un troisième animal par rapport au deuxième et ainsi de suite jusqu'à 10 souris en notant les morts et les survies.

Nous avons utilisé cette méthode pour chacun des produits que nous voulions étudier et les animaux employés étaient des souris femelles C_3H/Jax âgées de 12 à 18 semaines. Une observation des animaux pendant les 24 heures qui suivent

l'injection suffit pour déterminer s'il y a mort ou pas. L'expérience montre en effet que dans le cas de ces produits, les animaux survivants au bout de 24 heures survivent à 30 jours. Ceci correspond aux conditions les plus favorables d'utilisation de ce test. La toxicité se manifeste surtout par des crises convulsives débutant rapidement après l'injection, et qui aboutissent pour des doses élevées à la mort de l'animal.

Le décompte du nombre de morts ou de survivants chez les animaux, testés comme nous l'avons décrit précédemment, nous permet de dresser le tableau suivant :

I	II	III										IV	V	VI	VII	VIII
doses mg/20g	log doses 20g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	x	o	n_i	i	in_i
43,7	1,64	x		x								2	0	0	2	0
36,3	1,56		o		x		x		x		x	4	1	1	1	1
30,2	1,48					o		o		o		0	3	3	0	0
												6	4	4 N		1 A

Colonne I : dose qui serait injectée à une souris de 20 g

Colonne II : logarithme de la dose 20 g

Colonne III : on note pour chacune des 10 souris
x pour les souris mortes
o pour les souris survivantes

Colonne IV : (x) total des souris mortes pour chaque dose injectée

Colonne V : (o) total des souris survivantes pour chaque dose injectée

Colonne VI : (n_i) on répète la colonne IV ou V précédente possédant le total le plus petit en addition verticale
l'événement correspondant à cette colonne (mortalité ou survie) est celui sur lequel sera basé la suite de ce test. En cas d'égalité du nombre des morts et des survies, on choisit indifféremment l'un ou l'autre événement.

Colonne VII : (i) on attribue le chiffre zéro à la dose la plus faible à laquelle se produit l'événement choisi dans la colonne VI, on porte à la suite du zéro les chiffres 1, 2 ..... en face des doses supérieures successivement utilisées.

Colonne VIII : (in_i) pour chaque dose on fait le produit ($i \times n_i$)

Ces données permettent ensuite par un calcul très simple de déterminer la DL 50 avec une erreur standart maxima chiffrée par les auteurs à 5 %.

Pour cela on utilise la formule suivante :

$$m = y + d \left(\frac{A}{N} \pm \frac{1}{2}\right)$$

dans laquelle :

y = logarithme de la dose correspondant au chiffre 0 de la colonne VII

d = intervalle choisi entre les logarithmes des doses 20 g

A = Somme de in_i en addition verticale

N = Somme de n_i en addition verticale

$\pm \frac{1}{2}$ = le signe + est utilisé si le test est basé sur la survie
le signe - est utilisé si le test est basé sur la mortalité.

Le chiffre m obtenu représente le logarithme de la DL 50 pour une souris de 20 g .

Ainsi le calcul de la DL 50 correspondant au tableau précédent donne les résultats suivants :

$$m = y + d \left(\frac{A}{N} + \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 1{,}48 + 0{,}08 \left(\frac{1}{4} + \frac{1}{2}\right)$$

m = 1,54 = log. de DL 50 pour une souris de 20 g
DL 50 = 34,7 mg/20g
DL 50 = 1,75 mg/g

Remarques :

Sur le lot de 10 souris le nombre total de survie doit être approximativement égal au total des morts. En fait le nombre de survie d'une ligne horizontale ne peut différer de plus d'une unité du nombre des morts de la ligne horizontale correspondant à la concentration immédiatement supérieure. On peut dans le cas contraire prendre un intervalle de logarithme inférieur.

Les résultats obtenus pour chacun des corps étudiés sont consignés dans les tableaux suivants donnant les doses injectées, la mortalité des souris et la valeur des différents facteurs intervenant dans le calcul final. Ce calcul nous permet d'obtenir, pour tous les composés la dose léthale 50 pour cent en milligrammes par gramme d'animal.

Toxicité de l'imidazole

dose mg/ 20g	log. dose 20g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	x	o	n_i	i	in_i
13,90	1,143						x				•	1	1	1	2	2
11,57	1,063					o		x		o		1	2	1	1	1
9,61	0,983		x		o				o			1	2	1	0	0
8	0,903	o		o									2			
												3	7	3 N		3 A

le test est fait en fonction de la mortalité

$$m = y + d\left(\frac{A}{N} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 0{,}983 + 0{,}080\left(\frac{3}{3} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 1{,}023$$

DL 50/20g = 10,55 mg

DL 50/g = 0,52 mg

2-imidazolinone

dose mg/ 20g	log. dose 20g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	x	o	n_i	i	in_i
70,8	1,850					x						1	0	1	3	3
58,9	1,770				o		x					1	1	1	2	2
50	1,690	x		o				x				2	1	2	1	2
40,8	1,610		o						x		o	1	2	1	0	0
33,9	1,530									o		0	1	0		
												5	5	5		7
														N		A

Le test est fait en fonction de la mortalité

$$m = y + d\left(\frac{A}{N} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 1,610 + 0,08\left(\frac{7}{5} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 1,682 = \log.\ DL\ 50/20g$$

DL 50/20g = 48,1 mg

DL 50/g = 2,4 mg

4-méthyl-2-imidazolinone

Dose mg/ 20g	log. dose 20g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	x	o	n_i	i	in_i
31,36	1,496		x		x		x		x		x	5	0	5	0	0
26,08	1,416	o		o		o		o		o		0	5	0		
												5	5	5 N		0 A

Le test est fait en fonction de la mortalité

$$m = y + d\left(\frac{A}{N} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 1,496 + 0,080\left(-\frac{1}{2}\right)$$

$$m = 1,456$$

DL 50/20g = 28,6 mg

DL 50/g = 1,4 mg

1-méthyl-2-mercapto-imidazole

dose mg/ 20g	log. dose 20g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	x	o	n_i	i	in_i
19,0	1,278							x		x		2	0	2	2	4
15,8	1,198				x		o		o		x	2	2	2	1	2
13,1	1,118	x		o		o						1	2	1	0	0
10,9	1,038		o									0	1			
												5	5	5 N		6 A

Le test est fait en fonction de la mortalité

$$m = y + d \left(\frac{A}{N} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 1,118 + 0,080 \left(\frac{6}{5} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 1,174$$

DL 50/20g = 14,95 mg

DL 50/g = 0,75 mg

4-méthyl-2-thione-imidazoline

dose mg/ 20g	log. dose 20g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	x	o	n_i	i	in_i
57,5	1,759	x		x						x		3	0	3	1	3
47,8	1,679		0		x				0		0	2	3	2	0	0
39,8	1,599					0		0				0	2	0	0	
												5	5	5 N		3 A

Le test est fait en fonction de la mortalité

$$m = y + d \left(\frac{A}{N} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 1,679 + 0,08 \left(\frac{3}{5} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = \log.\ DL\ 50/20g = 1,687$$

$$DL\ 50/20g = 48,6\ g$$

DL 50/g = 2,4 mg

2.2.4.4.-tétraméthyl-5-thione-imidazolidine

dose mg/ 20g	log. dose 20g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	x	o	n_i	i	in_i
4,00	0,602										x	1		1	2	2
3,32	0,522	x								o		1	1	1	1	1
2,76	0,442		x		x		x		o			3	1	3	0	0
2,31	0,362			o		o		o				0	3			
												5	5	5 N		3 A

le test est fait en fonction de la mortalité

$$m = y + d \left(\frac{A}{N} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 0,442 + 0,080 \left(\frac{3}{5} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 0,450$$

DL 50/20g = 2,82 mg

DL 50/g = 0,14 mg

2.2.4.-triméthyl-5-thione-imidazolidine

dose mg/ 20g	log. dose 20g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	x	o	n_i	i	in_i
7,26	0,861			x		x						2		2	2	4
6,04	0,781		o		o		x				o	1	3	1	1	1
5,02	0,701	o						x		o		1	2	1	0	0
4,17	0,621								o				1			
												4	6	4 N		5 A

le test est fait en fonction de la mortalité

$$m = y + d \left(\frac{A}{N} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 0,701 + 0,080 \left(\frac{5}{4} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 0,761$$

DL 50/20g = 5,77 mg

DL 50/g = 0,29 mg

2-phényl-4.4-diméthyl-5-thione-imidazolidine

dose mg/ 20g	log. dose 20g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	x	o	n_i	i	in_i
3,32	0,521								x		x	2		2	2	4
2,77	0,441	x				x		o		o		2	2	2	1	2
2,30	0,361		x		o		o					1	2	1	0	0
1,93	0,281			o									1			
												5	5	5 N		6 A

le test est fait en fonction de la mortalité

$$m = y + d \left(\frac{A}{N} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 0{,}361 + 0{,}080 \left(\frac{6}{5} - \frac{1}{2}\right)$$

$$m = 0{,}417$$

DL 50/20g = 2,61 mg

DL 50/g = 0,13 mg

C H A P I T R E V

METHODE ET APPAREILLAGE

Pour mettre en évidence l'activité radioprotectrice de cette série de composés, nous avons choisi de tester leur action sur la survie de souris irradiées avec des doses mortelles de rayons X, l'injection du corps à étudier étant faite immédiatement avant l'irradiation. Dans ce cas la mortalité à court terme, c'est-à-dire 30 jours, est le critère le plus universellement utilisé. Ainsi après une irradiation 100 % mortelle chez les témoins, le pourcentage de survie à 30 jours des animaux traités par les produits à étudier sert à chiffrer leur activité.

Cette méthode présente l'avantage d'établir rapidement une discrimination entre les produits susceptibles d'être actifs ou non, et de sélectionner en vue d'une étude plus complète ceux qui paraissent intéressants.

D'autre part, la détermination de la dose léthale 100 % est facilement réalisable, alors que la pente très raide de la courbe de mortalité des souris en fonction de la dose rend hazardeuse, d'après DOHERTY, l'utilisation de la DL 50 pour ce test, à moins d'utiliser un nombre très important d'animaux.

La présence de souris témoins non traitées dans chaque lot d'animaux irradiés, et la surveillance de leur mortalité sert de test de dosimètrie biologique et de

contrôle de la bonne marche de l'expérience.

Il est important également lors d'une irradiation par les rayons X de choisir un débit convenable. En effet, si pour des débits compris entre 50 et 200 roentgens par minute on ne note aucune différence dans les résultats obtenus, des débits très faibles ou trop élevés donnent des modifications significatives de la mortalité des animaux témoins. De plus, de nombreux auteurs, et en particulier DOHERTY, recommandent de tenir compte de l'assymétrie du champ de rayonnement et de placer les animaux sur un plateau tournant. C'est ce que nous avons essayé de réaliser pour nos expériences.

D'autres considérations sont également importantes dans la réalisation de ce test.

-Tout d'abord la toxicité du produit - Il faut veiller à ce que cette toxicité ne s'ajoute pas aux effets de l'irradiation pour en fausser les résultats. Il est donc indispensable avant un test de radioprotection non seulement de déterminer la dose toxique du composé, mais aussi de ne pas perdre de vue qu'une dose tolérée par une souris saine, peut être mortelle pour une souris irradiée. C'est ainsi que nous avons comme nous venons de le voir, déterminé pour chacun des produits étudiés sa toxicité en établissant la dose léthale 50 %. Dans les expériences préliminaires la dose injectée aux animaux à été choisie égale à la moitié de la DL 50, nous réservant d'augmenter ou de diminuer cette dose suivant les réactions des animaux. D'autre part, dans chaque expérience, des animaux ayant reçu une injection identique du produit sans être irradié nous permettent de contrôler l'inocuité de la dose utilisée.

-La voie d'administration du composé- Nous avons choisi la voie intrapéritonéale qui est la plus commode et le plus largement utilisée pour ces tests.

-Le temps de latence entre l'injection du produit et le début de l'irradiation- Ce temps doit être suffisant pour permettre l'absorption et la distribution du composé, et cependant assez court pour empêcher son métabolisme et son excrétion. Ce temps varie avec la substance étudiée, mais s'échelonne généralement entre 5 et 30 minutes. Nous avons à la suite de différents essais choisi un intervalle de 5 minutes.

Il est bien évident que tout ce qui précède s'applique à l'étude systématique d'une série de composés, mais que si l'on se trouve en présence d'un produit bon protecteur, son étude devra être beaucoup plus complète, et d'autres critères seront alors utilisés. C'est ainsi que nous avons dans ce travail, a propos de l'imidazole déterminé la courbe de mortalité en fonction de la dose, l'augmentation de la DL 50/30 jours, la quantité optimale de produit à utiliser, le temps de latence préférable entre l'injection et l'irradiation, le facteur de réduction de dose.

Après avoir donné le principe de la méthode que nous avons utilisée pour l'étude des propriétés radioprotectrices de ces produits, nous allons présenter rapidement le matériel et les techniques d'irradiation employés.

800 animaux ont été utilisés pour ces expériences. Ce sont des souris de souche C_3H/Jax provenant du R.B. Jackson Memorial Laboratory et qui nous ont été fournies par le Centre de Sélection des Animaux de Laboratoire de GIF-sur-YVETTE. Ces animaux sont maintenus en élevage

consanguin depuis 1959 au Laboratoire de Radiobiologie. Nous utilisons dans nos expériences des mâles pour les essais de protection, les femelles étant réservées aux tests de toxicité. Les animaux utilisés sont âgés de 12 à 18 semaines.

Pendant toute la durée de l'expérimentation, les souris ont été gardées dans des conditions de vie identiques à celles de l'élevage. Placées au nombre de 5 dans des cages métalliques garnies de copeaux, elles sont maintenues dans un local à température constante de 21°. Elles reçoivent des aliments complets sous forme de biscuits et de l'eau potable à volonté. Après irradiation, les animaux sont dénombrés chaque jour.

L'appareil que nous avons employé pour les irradiations X est un générateur Massiot Philips Isodyne du type utilisé normalement en radiothérapie et fonctionnant sous une tension continue de 180 kV, avec un intensité de 18 mA. Les animaux, placés à une distance de 50 cm de la source filtrée par une plaque de cuivre de 0,5 mm d'épaisseur, sont soumis à un débit de dose de 80 roentgens par minute.

Les souris à irradier, sont distribuées dans une boite cylindrique de 19 cm de diamètre et de 3,5 cm de haut, en plexiglass et divisée en 11 compartiments radiaires égaux. Chacun de ces compartiments devant recevoir une souris est percé sur les faces latérales et inférieures de trous assurant la respiration normale de l'animal. Le couvercle est une plaque de plexiglass de 2 mm d'épaisseur.

Pendant l'irradiation un dispositif permet à la boite de tourner autour de son axe à la vitesse de 1 tour

par minute pour homogénéiser l'énergie radiante reçue par chacune des souris.

Pour diminuer l'importance que pourrait avoir de légères variations des doses données pendant l'irradiation à des lots successifs de souris, nous avons, pour chaque expérience, placé dans les 11 cases de la boite, 5 souris témoins et 5 souris protégées. La 11ème case, qui possède une ouverture spéciale adaptée à la sonde du dosimètre est utilisée pour les mesure des doses de rayonnements.

La dosimétrie a été effectuée à l'aide d'un appareil de la Société Massiot-Philips équipé d'une chambre d'ionisation de 2 roentgens.

Pour la détermination de l'irradiation subie par les souris pendant les expériences, deux mesures sont effectuées successivement : une avec la sonde placée à l'intérieur d'une case de la boite d'irradiation, l'autre avec la chambre au dessus du couvercle. Un simple calcul permet de déduire la dose à donner au dessus de la boite (emplacement de la sonde pendant les mesures) pour obtenir la dose choisie dans le logement où se trouve l'animal.

Le choix de cette méthode de mesure, qui est utilisée dans le laboratoire du Professeur BACQ à Liège, a été dicté par l'obligation où nous nous trouvons de faire tourner la boite renfermant les animaux pendant l'irradiation. Ceci interdit en effet la fixité de position de la chambre d'ionisation dans un des compartiments de la boite.

C H A P I T R E V I

RESULTATS

Avant de commencer l'étude des propriétés protectrices éventuelles de la série des 8 composés que nous devions étudier, il était nécessaire de déterminer la dose de rayons X représentant la dose léthale 100 % pour la race de souris que nous utilisons et pour les conditions expérimentales dans lesquelles nous nous plaçons.

Nous avons donc dans une série d'essais préliminaires procédé à l'irradiation de lots de souris témoins pour définir la dose minimale mortelle pour tous les témoins.

Les résultats obtenus dans cette série d'expériences sont donnés par la figure 1. Cette courbe correspond à la partie supérieure de la sigmoïde représentant le pourcentage de mortalité à 30 jours en fonction de la dose.

L'étude de cette courbe nous a amené à choisir la dose de 800 r pour nos premières expériences, dose qui nous assure la mortalité totale des témoins.

Pour obtenir l'allure de la courbe de mortalité en fonction du temps ainsi que la répartition de la mortalité, nous avons alors procédé à l'irradiation de 5 lots de 10 souris témoins ayant reçu 5 minutes avant l'irradia-

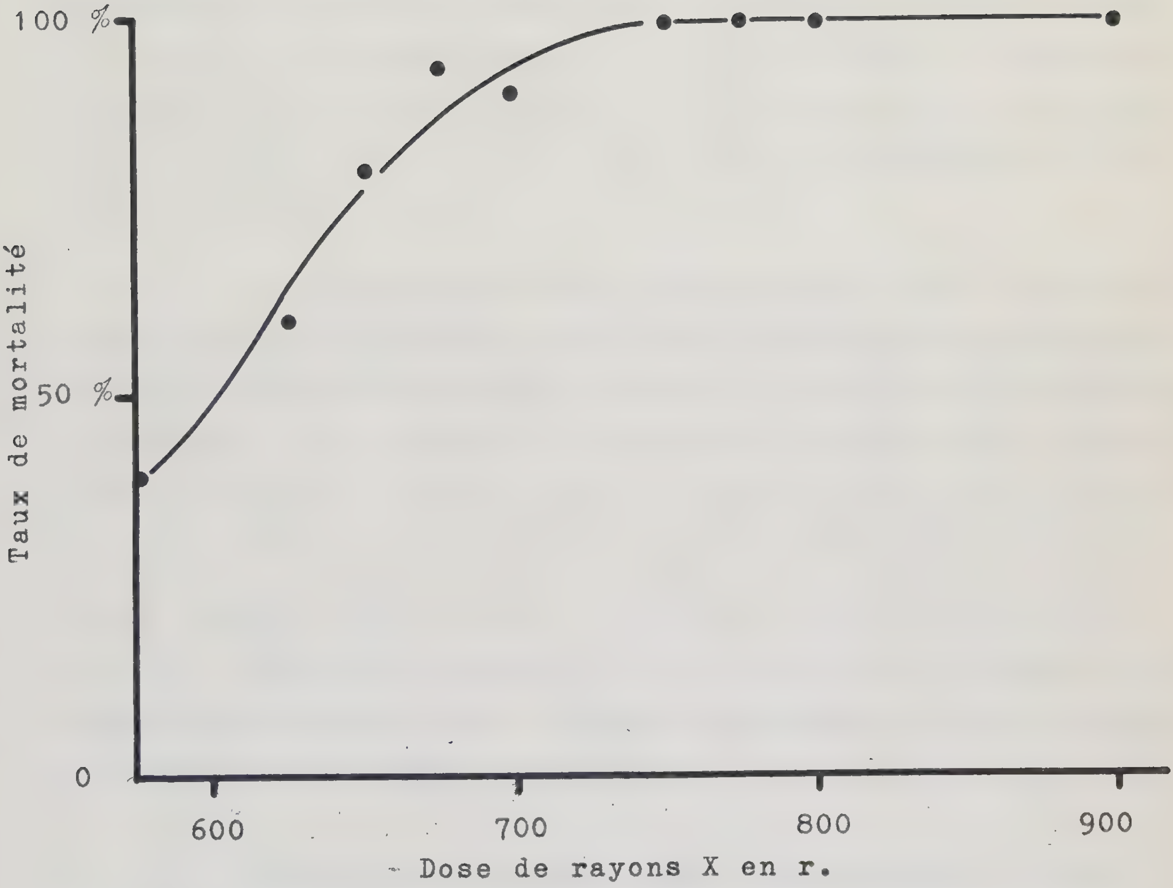


Fig 1 - Courbe de mortalité de souris irradiées en fonction de la dose reçue.

tion 0,5 ml de sérum physiologique.

La courbe obtenue représentée sur la figure 2 montre que la mortalité est totale en 16 jours mais qu'aucune mort ne survient chez les animaux irradiés pendant les 3 premiers jours qui suivent l'irradiation. Le pourcentage de morts le plus élevé se situe le 9e et le 11e jour comme le montre la figure 3 donnant la répartition de la mortalité pour les jours qui suivent l'irradiation. Ces résultats ont été complétés à l'aide des témoins de plusieurs séries d'expériences.

Une troisième série d'expériences a été consacrée à la protection apportée dans nos conditions expérimentales par un radioprotecteur de référence ; nous avons utilisé la cystéamine à la dose de 150 mg par kg d'animal par voie intrapéritonéale 5 minutes avant l'irradiation. Les résultats 30 jours après l'irradiation nous ont donné (fig. 4) 93 % de survie chez les animaux traités alors que tous les témoins étaient morts. Cette protection remarquable obtenue avec la cystéamine montre que nos conditions expérimentales sont satisfaisantes pour l'examen systématique des produits que nous avons choisi d'étudier.

Comme nous l'avons exposé précédemment en donnant le principe de la méthode que nous allons utiliser pour ces tests, la première série d'expériences est destinée à tester rapidement les 8 composés étudiés.

Nous avons à la suite des expériences précédentes choisi d'irradier les souris avec une dose de 800 r délivrés en 10 minutes environ. Sur le lot des 10 animaux irradiés en une fois, les 5 témoins avaient préalablement reçu 0,5 ml de soluté physiologique et les 5 souris

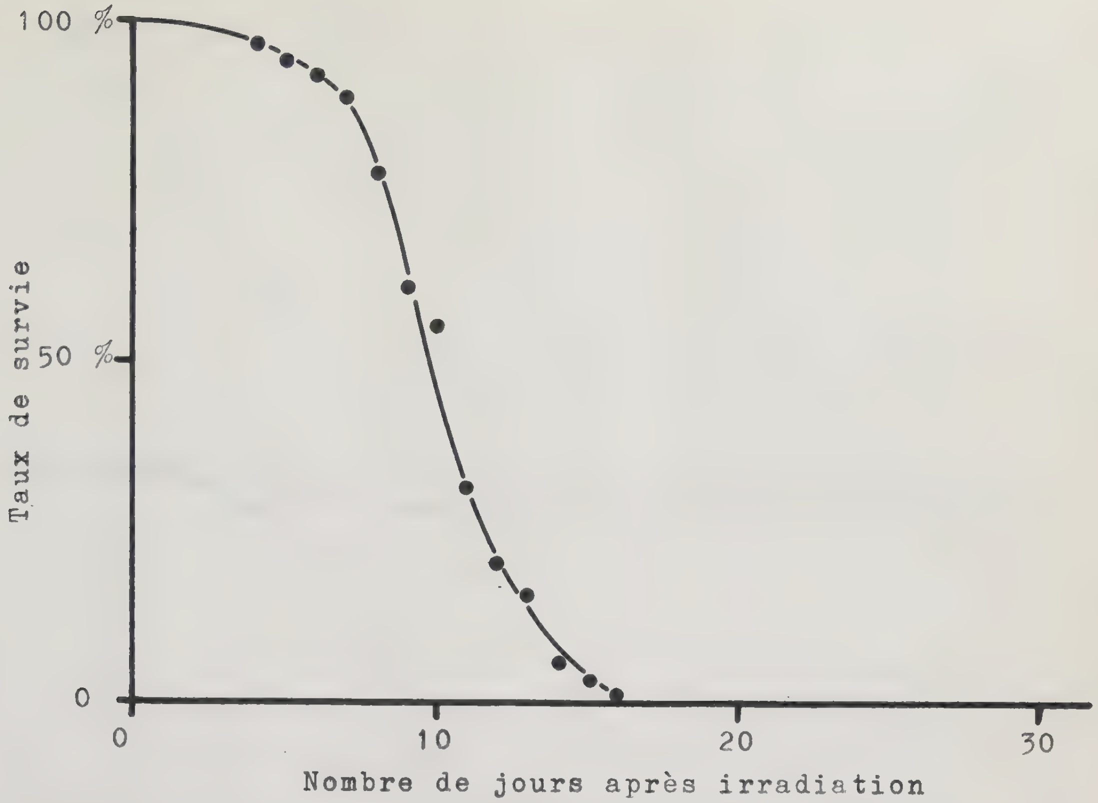


Fig. 2 - Courbe de survie de souris témoins irradiées à 800 r.

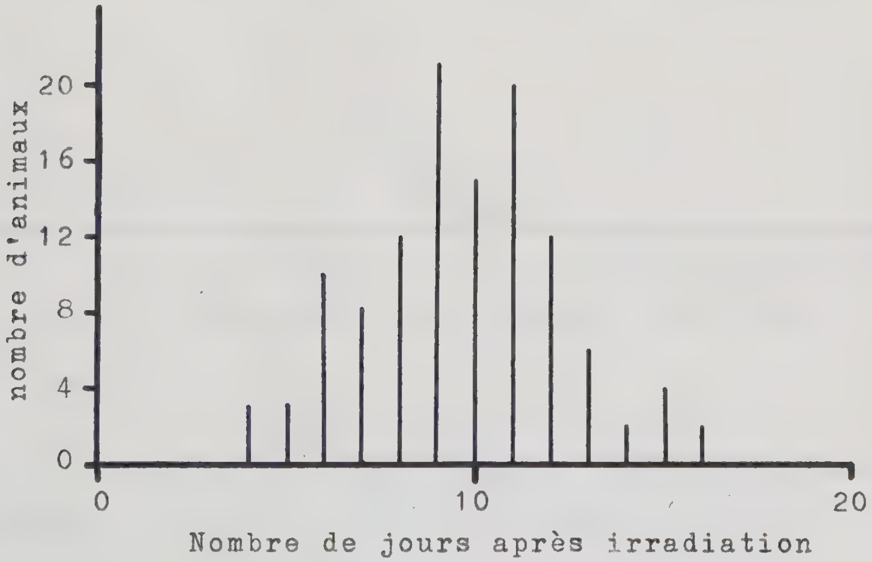


Fig. 3 - Répartition de la mortalité chez les animaux témoins ayant reçu une dose de rayons X de 800 r.

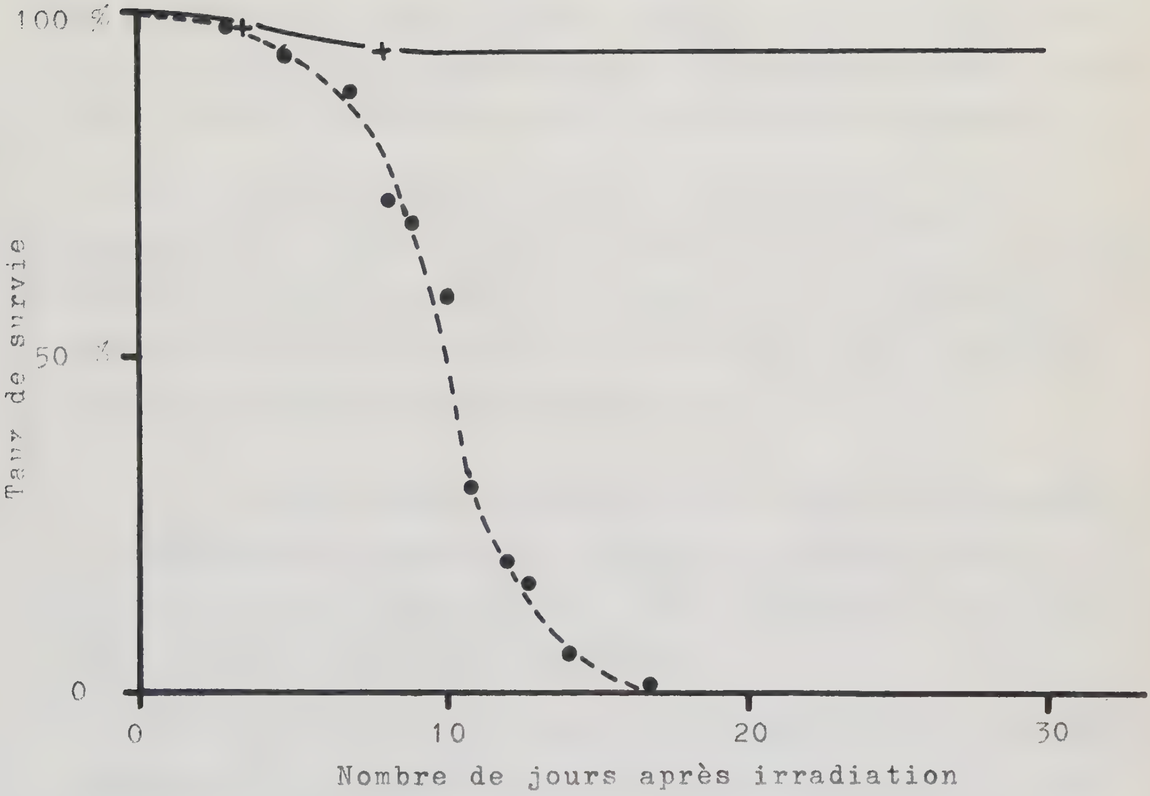


Fig. 4 - Courbe de survie de souris témoins (•) et de souris protégées (+) par la cystéamine après une irradiation de 800 r.

protégées une quantité de produit à étudier égale à la moitié de la DL 50 précédemment déterminée $(\frac{\text{DL 50 mg/g}}{2})$. Pour chaque expérience, cette solution a été préparée extemporanément en utilisant du soluté physiologique comme solvant. Pour les 5-thione-imidazolidines la solution a été amenée à pH 7 au moment de l'utilisation. Ceci n'a pas été fait pour les autres composés d'une part parce que des mesures de pH ont montré que les solutions non neutralisées pouvaient très bien être tolérées par les animaux, et d'autre part parce que des essais de protection faits avec des solutions neutralisées et non neutralisées n'ont donné aucune différence entre les résultats obtenus.

Les injections de soluté physiologique et de solution des corps étudiés ont été faites dans le péritoire entre 7 et 5 minutes avant le début de l'irradiation, en considérant qu'il faut environ 2 minutes pour pratiquer les injections aux souris d'un lot.

Avant chaque expérience les souris sont pesées et réparties en groupes de 5 souris de poids égaux, et on veille à ce que les poids des lots témoins et des lots protégés correspondent deux à deux.

Les doses injectées aux souris pour les différents composés et qui sont égales à la moitié de la DL 50 sont données dans le tableau suivant ;

Produit	DL 50/g de souris	dose injectée/ g de souris
Imidazole	0,52	0,26
2 imidazolinone	2,4	1,20
4-méthyl-2-imidazolinone	1,4	0,70
1-méthyl-2-mercaptoimidazole	0,75	0,40
4-méthyl-2-thione-imidazoline	2,4	1,20
2.2.4.4.-tétraméthyl-5-thione imidazolidine	0,14	0,075
2.2.4.-triméthyl-5-thione imidazolidine	0,29	0,150
2-phényl-4-diméthyl-5-thione imidazolidine	0,13	0,075

Nous signalerons à ce sujet les doses extrêmement faibles qui devront par suite de leur toxicité, être utilisées pour les 5-thiones-imidazolidines par rapport aux autres composés étudiés.

Les résultats obtenus pour les tests de protection sont présentés dans les figures 5 et 6.

Nous remarquons que l'imidazole seul parait présenter en première approximation des propriétés intéressantes. En effet alors que les animaux témoins sont tous morts en 18 jours, 35 % des souris traitées avec l'imidazole survivent après 30 jours.

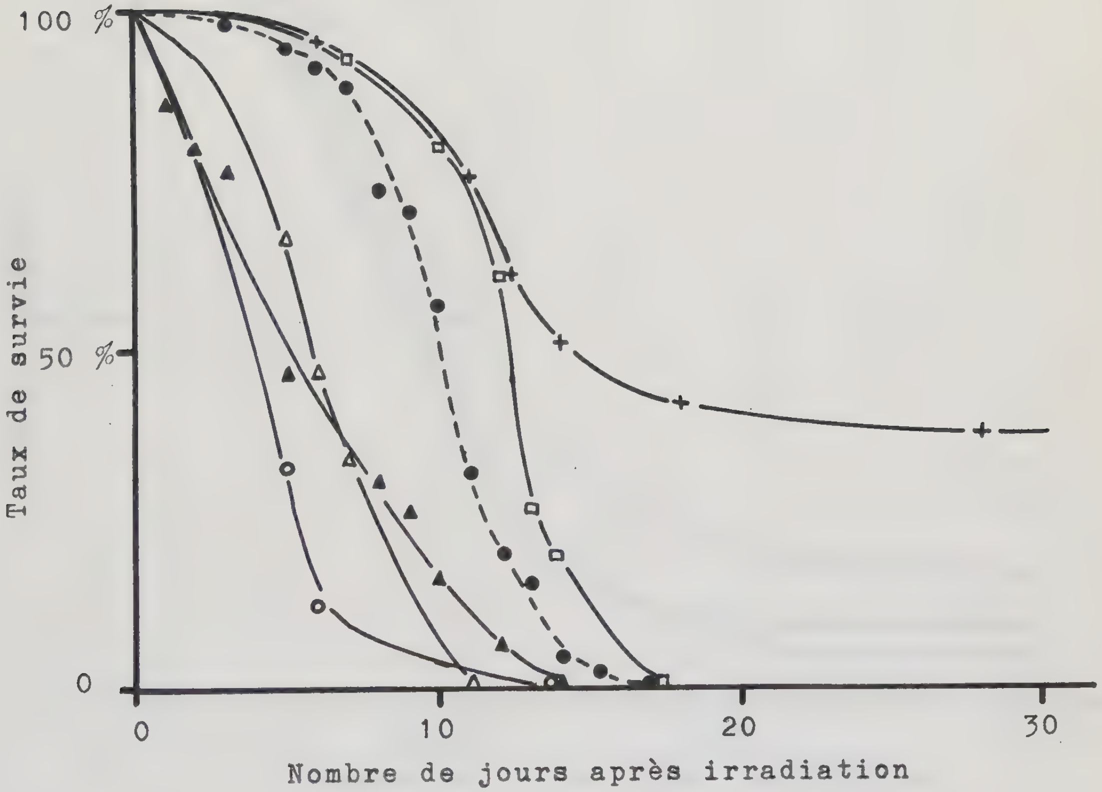


Fig. 5 - Courbes de survie de souris irradiées à 800 r. Animaux témoins (●) et protégés par l'imidazole (+), la 4-methyl-2-imidazolinone (▫), la 1-methyl-2-mercapto-imidazole (△), la 4-methyl-2-thione-imidazoline (○) et l'imidazolinone (▲) à la dose de DL50/2 mg/g.

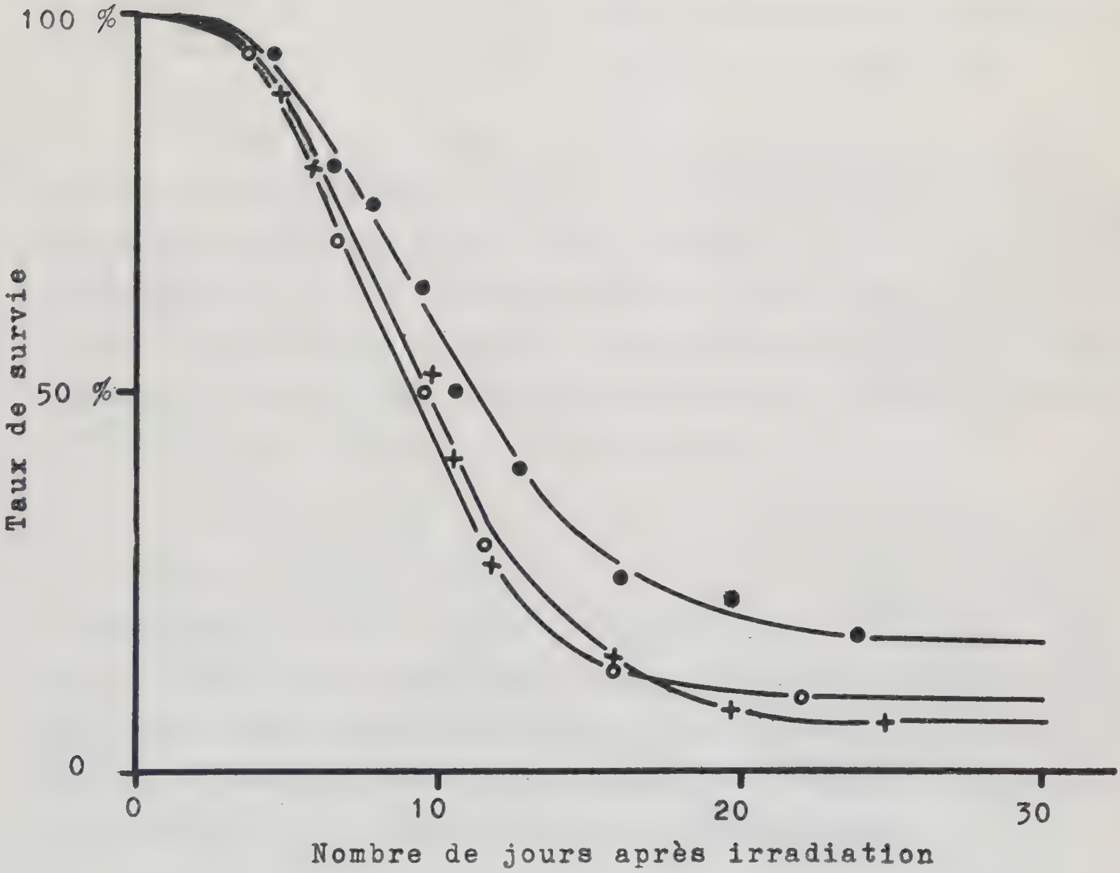


Fig. 6 - Courbe de survie de souris irradiées à 800 r après injection intrapéritonéale de tetramethyl-5-thione-imidazolidine (•) , de dimethyl-phenyl-5-thione-imidazolidine (+) et de trimethyl-5-thione-imidazolidine (o).

Nous trouvons aussi quelques animaux survivants parmi ceux traités avec les 5-thione-imidazolidines mais ces pourcentages compris entre 7 et 17 % restent très faibles. D'autre part la toxicité de ces produits rend impossible tous essais à des doses supérieures ; en effet des expériences faites avec la 2.2.4.4.-tétraméthyl-5-thione-imidazolidine et la 2-phényl-4.4.-diméthyl-5-thione-imidazolidine à la dose de 0,100 mg/g d'animal ont donné un taux important de mortalité pendant l'irradiation.

En ce qui concerne les imidazolinones et les 2-thione-imidazolines, non seulement ces produits ne paraissent pas protecteurs mais les animaux traités meurent plus rapidement que les animaux témoins. Nous sommes sans aucun doute en présence de cas de toxicité exalté par les rayonnements, puisque les animaux traités non irradiés ne présentent aucun symptôme d'intoxication.

Nous avons donc repris avec les derniers corps une nouvelle série d'expériences avec une dose de composé inférieure à celle injectée précédemment. Nous avons choisi une dose identique pour tous, égale à 0,35 mg/g d'animal, que nous avons utilisée pour : l'imidazole, la 2-imidazolinone, la 4-méthyl-2-imidazolinone, la 1-méthyl-2-mercapto-imidazole et la 4-méthyl-2-thione-imidazoline.

Les résultats (fig.7) montrent également dans ce cas une survie d'environ 35 % au bout de 30 jours pour les animaux traités par l'imidazole. Les autres composés présentent des courbes de mortalité absolument semblables à la courbe de mortalité des témoins ; aucune protection n'apparait donc.

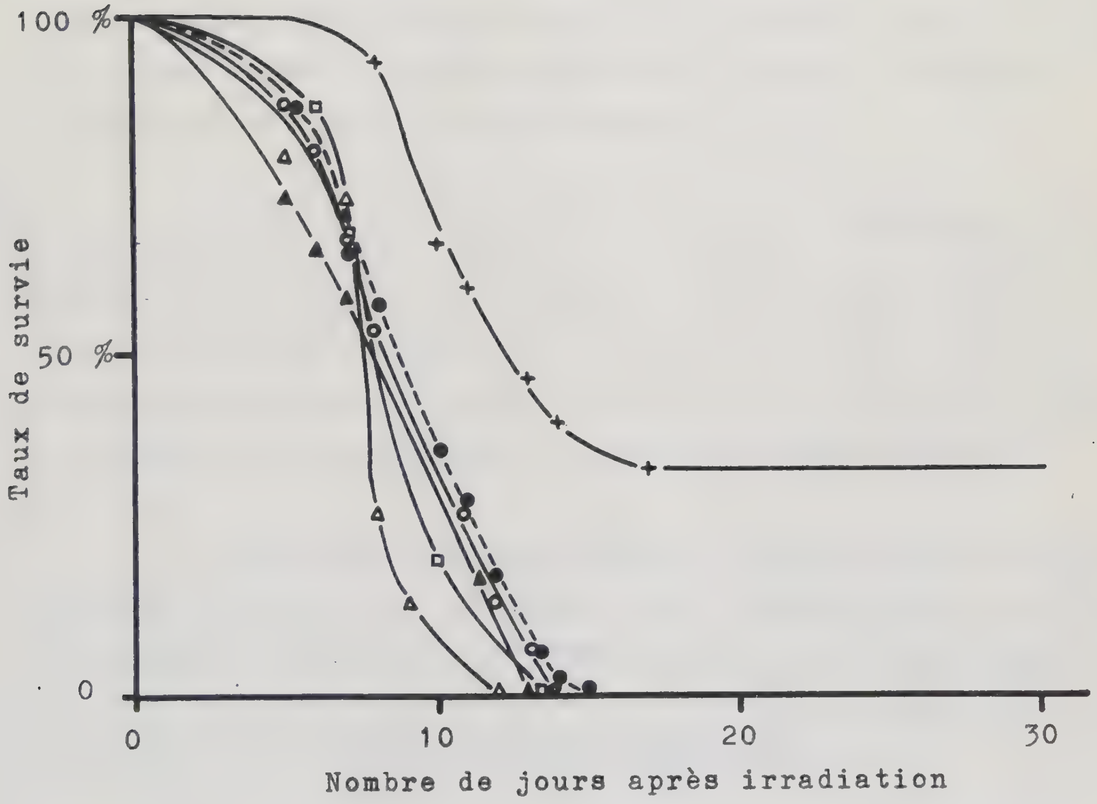


Fig. 7 - Courbe de survie de souris irradiées à 800 r après traitement par les produits suivants (0,35 mg/g) : témoins (●), imidazole (+), 4-methyl-2-imidazolinone (□), 1-methyl-2-mercapto-imidazole (△), 4-methyl-2-thione-imidazoline (○) et imidazolinone(▲).

Nous avons enfin essayé d'abaisser légèrement la dose de rayons X administrée afin de faciliter peut être l'apparition d'une protection qui si elle est légère peut être masquée par une irradiation un peu supérieure à la DL 100/30 jours. Nous avons donc, en gardant la quantité de 0,35 mg/g de produit injecté, soumis les animaux à une dose de rayons X de 775 r. On observe alors une augmentation nette du pourcentage de survie obtenu avec l'imidazole puisqu'il passe à 50 %, mais on n'obtient rien de semblable avec les imidazolinones et les thione-imidazolines, dont les courbes de mortalité sont toujours identiques à celles des animaux témoins (fig.8).

Après ces différentes séries d'expériences une conclusion s'impose clairement : de tous les composés étudiés, seul l'imidazole présente des propriétés radioprotectrices intéressantes. La protection faible donnée par les 5-thione-imidazolidines jointe à leur toxicité élevée ne parait pas justifier une étude plus approfondie.

Nous allons donc dans la deuxième partie de ce travail porter notre attention plus spécialement sur l'imidazole pour essayer de déterminer les conditions optimales de son activité et définir si possible son importance dans le groupe des radioprotecteurs chimiques.

Nous avons dans un premier temps étudié l'influence du temps de latence entre l'injection et l'irradiation. Pour cela l'injection a été faite 1 heure, 30 minutes, 15 minutes avant l'irradiation, immédiatement avant et immédiatement après l'irradiation. La quantité de produit était de 0,35 mg/g d'animal et la dose de rayons X de 725 r. Dans ces conditions les courbes de mortalité des témoins et des animaux injectés 1 heure avant et immédiatement après sont

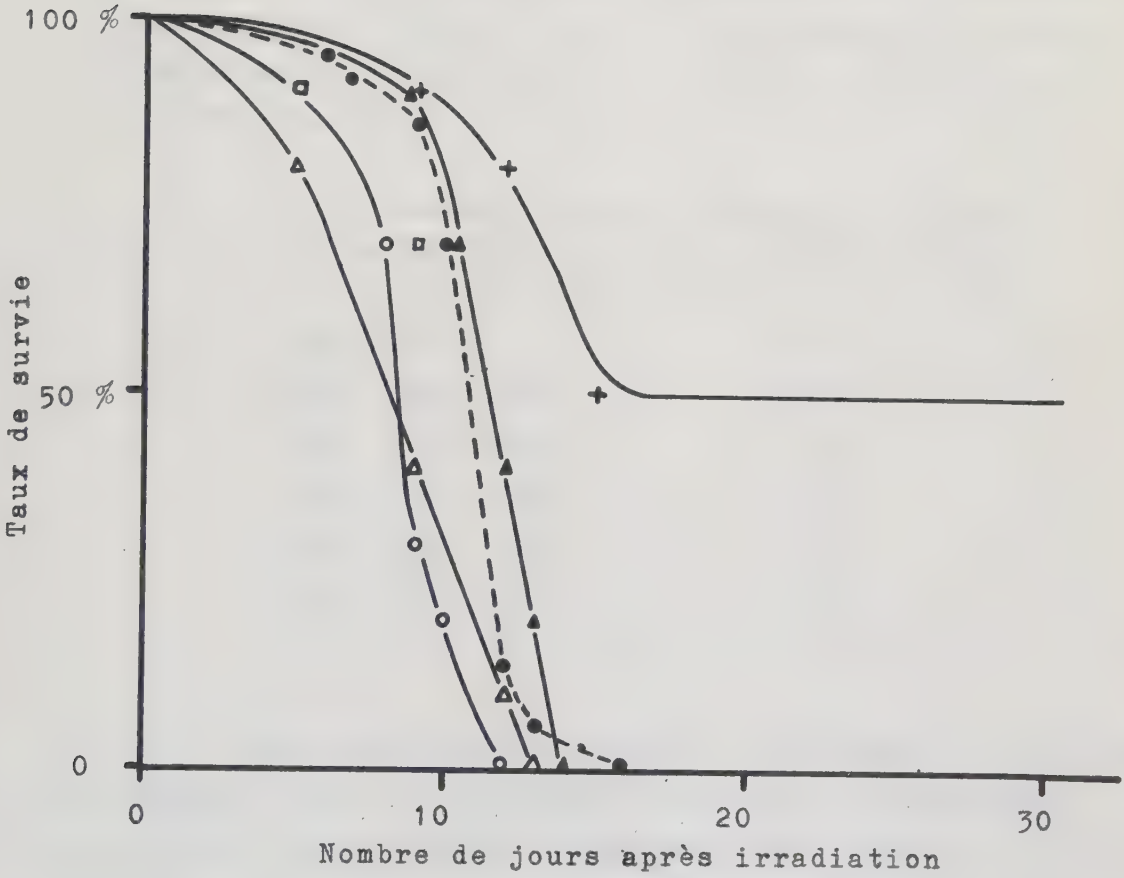


Fig. 8 - Courbe de survie de souris irradiée à 775 r après traitement par les composés suivants (0,35 mg/g) : témoins (●), imidazole (+), 4-methyl-2-imidazolinone (▫), 1-methyl-2-mercapto-imidazole (△), 4-methyl-2-thione imidazoline (○) et imidazolinone(▲).

semblables à celles des animaux témoins non protégés.

Pour les animaux injectés 30 minutes avant on note un léger pourcentage de survie, qui augmente pour les animaux injectés 15 minutes avant l'irradiation. Mais indiscutablement c'est l'injection immédiatement avant qui donne les meilleurs résultats puisque dans ces conditions d'irradiation on obtient ici 90 % de survie. Le tableau suivant donne les pourcentages de survie à 30 jours pour ces différents lots.

Temps de latence	% de survie à 30 j.
Témoins	20 %
Inj. imm. après	10 %
Inj. 1 H. avant	20 %
Inj. 30 mn avant	30 %
Inj. 15 mn avant	40 %
Inj. imm. avant	90 %

Nous avons ensuite étudié l'influence de la dose de rayons X sur la protection offerte par l'imidazole. Des irradiations ont été faites avec des doses de 1000, 900, 800, 775, 750, 725 r. La figure 9 montre les résultats obtenus ; la survie qui est nulle pour des doses de 1000 et 900 r apparait avec 35 % à 800 r, 50 % à 775 r, 80 % à 750 r et 90 % à 725 r.

La DL 50/30 jours qui était de 600 r pour les animaux témoins (fig. 1) passe donc à 775 r pour les animaux protégés par l'imidazole : le facteur de réduction de dose (qui est le rapport entre la dose qui est nécessaire

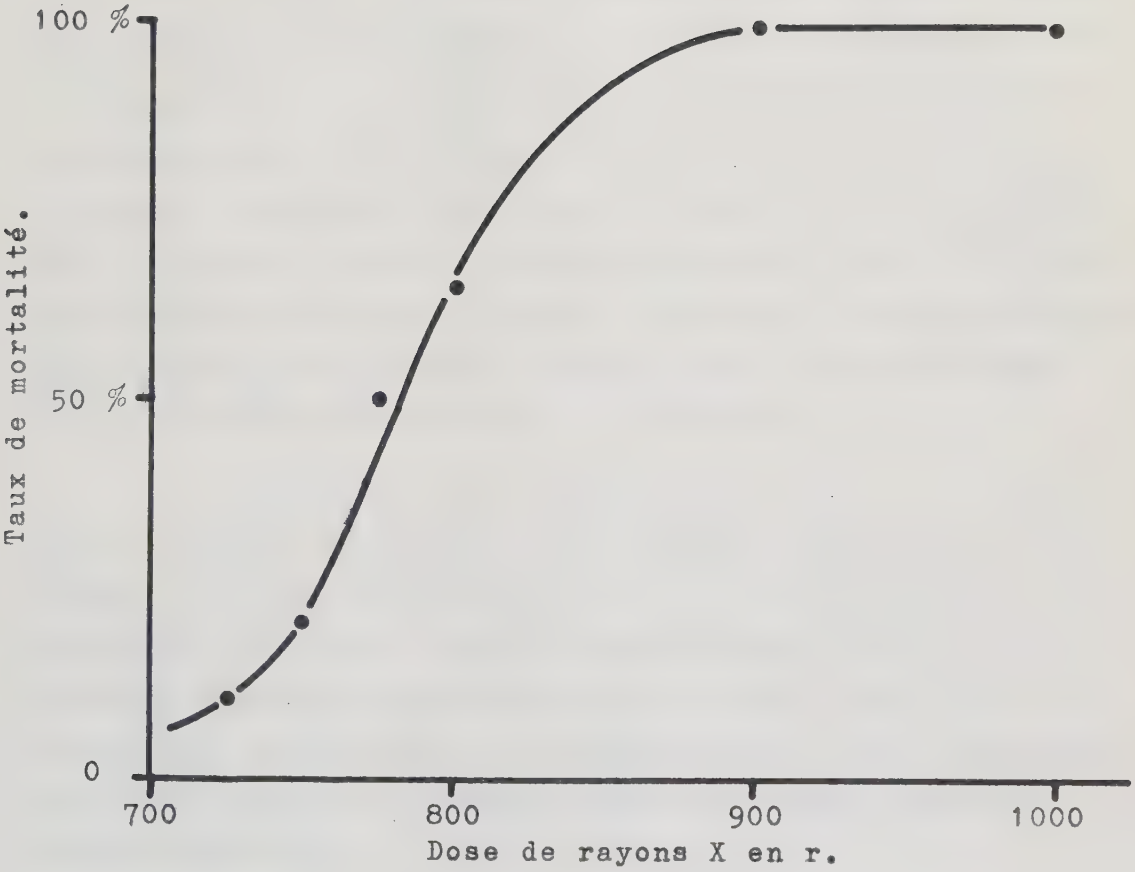


Fig. 9 - Courbe représentant le pourcentage de mortalité de souris protégées par l'imidazole (0,35 mg/g) en fonction de la dose de rayons X.

pour produire un certain effet en présence du protecteur et celle qui produirait le même effet en son absence) est ici de 1,3.

Enfin, la toxicité de l'imidazole ne paraissant pas augmentée par l'irradiation, nous avons essayé de déterminer la dose de produit susceptible de donner la meilleure protection. Sachant que la DL 50 de toxicité a été trouvée égale à 0,50 mg/g nous avons injecté les doses suivantes : 0, 15, 0,25, 0,35, 0,45 mg/g d'animal. Les résultats (fig. 10) montrent que pour une dose de rayons X de 750 r mortelle pour tous les témoins les pourcentages de survie obtenus sont respectivement de 60, 70, 80 et 90 %. La protection qui est donnée par l'imidazole augmente donc régulièrement avec la dose de produits même pour des doses très proches de la DL 50.

De ces dernières expériences faites avec l'imidazole on peut conclure que le maximum d'efficacité sera obtenu avec une dose de produit la plus élevée possible 0,45 mg/g d'animal, injectée immédiatement avant l'irradiation. Dans le cas d'une dose de rayons X de 750 r la protection obtenue est de l'ordre de 85 %. Ces résultats permettent donc de classer l'imidazole parmi les bons radioprotecteurs.

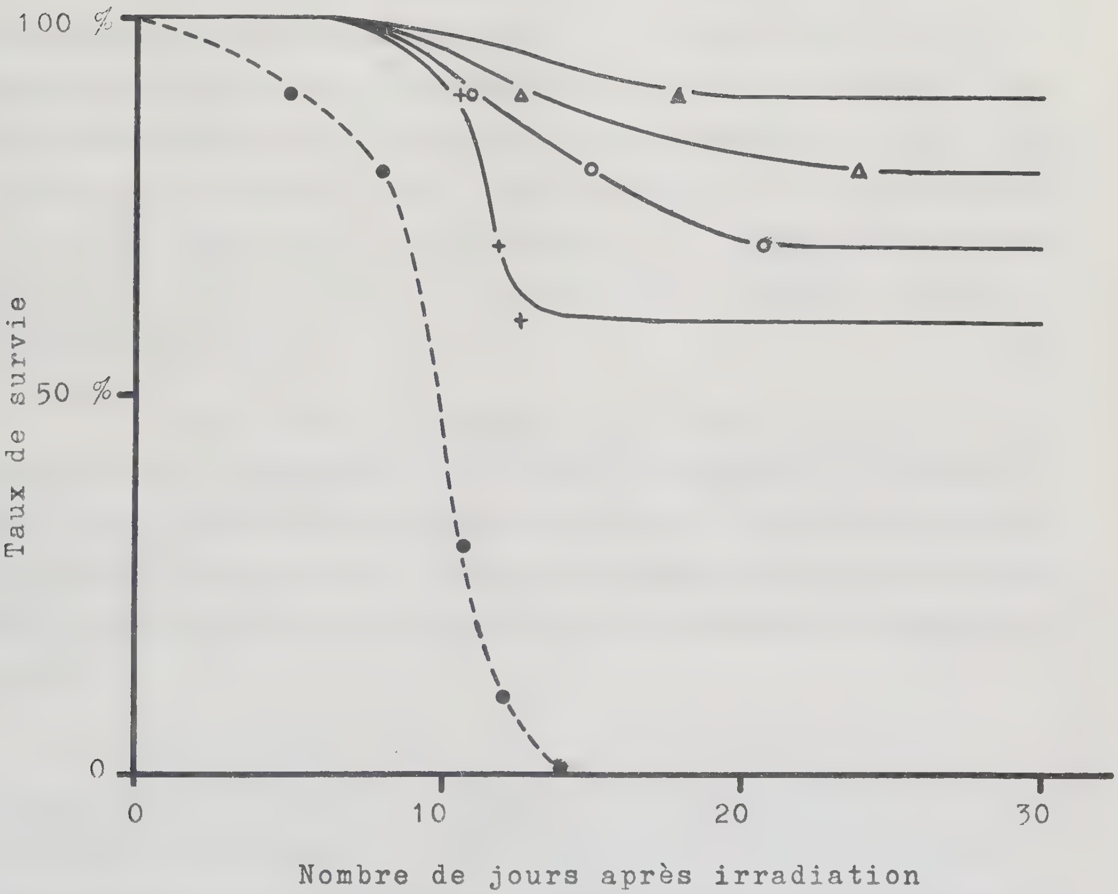


Fig. 10 - Courbes de survie de souris traitées par l'imidazole à des doses croissantes et soumises à une irradiation de 750 r. Témoins (•) et imidazole à la dose de 0,15 mg/g (+), de 0,25 mg/g (o), de 0,35 mg/g (△) et de 0,45 mg/g(▲).

C O N C L U S I O N

Ce travail a été consacré à l'étude des propriétés radioprotectrices éventuelles de huit composés parmi lesquels se trouvent l'imidazole, des imidazolinones, des 2-thione-imidazolines et des 5-thione-imidazolidines. Cette étude, pour laquelle nous avons dû réaliser la synthèse de six de ces composés, et déterminer leur toxicité (chiffrée par la DL 50/30 jours) nous a permis de dégager les conclusions suivantes :

1°) - Sur le plan des applications pratiques, il ressort que l'imidazole est un radioprotecteur excellent vis à vis d'une dose mortelle de rayons X chez la souris. En effet la survie à 30 jours des animaux traités atteint 85 % alors qu'elle est nulle chez les animaux témoins irradiés.

L'activité protectrice des 5-thione-imidazolidines étudiée dans les mêmes conditions que précédemment est faible (7 à 17 % de survie à 30 jours). De plus la toxicité importante de ces composés qui conduit à l'utilisation de doses efficaces proches de la dose toxique ne permet pas de les considérer comme des radioprotecteurs valables.

L'absence totale de protection contre les rayons X est très nette avec les 2-thione-imidazolines, de même qu'avec les 2-imidazolinones.

[illegible]
importante de ceux [illegible] qui conduit à l'utilisation thé-
[illegible] de la dose totale ; ne permet pas
de les considérer comme des radioprotecteurs valables. [illegible]
[illegible]
Avant très peu [illegible]
qu'avec les 2-mercaptoalkylamines.
[illegible] :

[illegible]

[illegible]
importante de ceux [illegible] qui conduit à l'utilisation thé-
[illegible]
de les considérer comme des radioprotecteurs valables. [illegible]
[illegible]
[illegible] de protection
Avant très peu [illegible] 2-[illegible] [illegible]

Il [illegible] liaisons [illegible], il
[illegible] protecteur [illegible]
[illegible]

2°) - Du point de vue théorique il est intéressant de noter que les différentes substitutions que nous avons pu effectuer sur l'imidazole par des groupements méthyles, phényles, carbonyles ou sulfhydriles ne font que diminuer l'activité de ce noyau. Il faut bien admettre que, dans ce cas, l'importance que l'on accorde souvent aux -SH en radioprotection chimique n'apparait pas.

3°) - En ce qui concerne l'imidazole, une étude plus complète a permis de déterminer les conditions optimales de son activité. Ainsi, il est apparu que l'injection intrapéritonéale de ce protecteur devait être faite immédiatement avant l'irradiation, et que la protection augmentait avec les doses de composés utilisées jusqu'à ce que celles-ci atteignent une valeur proche de la dose toxique DL 50/30 jours.

L'étude des différents taux de survie, obtenus après irradiations par des doses croissantes de rayons X, chez des souris protégées par l'imidazole et chez des souris témoins a montré que le "facteur de réduction de dose" est de 1,3 si l'on considère la DL 50/30 jours de ces deux séries d'animaux.

Ce travail a donc permis, d'une part de mettre en évidence, parmi les différents corps étudiés, un composé dont les propriétés radioprotectrices sont appréciables et d'autre part d'évaluer l'importance de certains groupements chimiques, en particulier soufrés, vis à vis de l'activité radioprotectrice.

VU, le Doyen
H. HERMANN

Le Président de la Thèse
Professeur DREVON

Vu et permis d'imprimer LYON, le 29 octobre 1962
Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,

P. LOUIS

B I B L I O G R A P H I E

OUVRAGES GENERAUX

1 - BACQ Z.M., et ALEXANDER P.
Fundamentals of Radiobiology
Pergamon Press. 1961

2 - BACQ Z.M., et ALEXANDER P.
Radiobiology symposium -Liège 1954
Publ. Butterworths scientific Publications 1955 - Londres

3 - BUGHER J.C., COURSAGET J., LOUTIT J.F.
Progress in nuclear energy -Biological Sciences
Pergamon Press 1959 -

4 - BURTON M., KIRBY-SMITH J.S., MAGEE J.L.
Comparative effects of radiation
Wiley and sons - 1960 -

5 - ERRERA M.
Effets biologiques des radiations - Aspects biochimiques
Ed. SPRINGER-VERLAG-WIEN - 1957

6 - ERRERA M., FORSSBERG A.
Mechanisms in radiobiology
Academic Press - 1961

7 - HAISSINSKY M.
Actions chimiques et biologiques des radiations
Editions Masson - Paris -

8 - HARRIS R.J.C.
The initial effects of ionizing radiations on cells
Academic Press - 1961 - Londres

9 - De HEVESY G.C., FORSSBERG A.G., ABATT J.D.
Advance in radiobiology - Stockholm 1956
Oliver and Boyd - 1961 - Londres

10 - HOLLAENDER A.
Radiation protection and recovery
Pergamon Press - 1960

10bis HOLLAENDER A., STAPLETON G.E.
Ciba foundation symposium on ionizing radiations and cells metabolism
Churchill - London - 1956

11 - LACASSAGNE A. GRIGOUROFF
Action des radiations ionisantes sur l'organisme
2ème Ed. Masson - 1956 -

12 - LEA D.E.
Action of radiations on living cells
Cambridge Univ. Press. 1946 -

13 - MEWISSEN D.J.
Radiolesions, radiocancers et radioprotection chimique
Ed. Maloine - Paris - 1961

14 - MITCHELL J.S., HOLMES B.E., SMITH C.L.
Progress in radiobiology - Cambridge 1955 -
Oliver and Boyd - Londres - 1956 -

15 - NICKSON J.J.
Symposium on radiobiology - The basic aspects of radiation effects on living systems - Oberlin College 1950
Wiley and sons - New-York - 1952 -

PUBLICATIONS

16 - ALEXANDER P., BACQ Z.M., COUSENS S.F., FOX M., HERVE A. LAZAR J.
Mode of action of some substances which protect against the lethal effects of X rays
Rad. Res. 1955 - Vol. 2 - p.392 -

17 - ASHIKAWA J.K., ANDERSON O.K.
Post irradiation protection of X-irradiated mice with olive oil
Rad. Res. 1960 - 13 - p.99 -

18 - ASHWOOD, SMITH M.J.
The radioprotection action of dimethyl sulphoxide and various other sulphoxides.
Int. J. Rad. Biol. 1961 - 3 - p.41 -

19 - BACQ Z.M.
La cystamine protecteur par voie orale contre le rayonnement X
Bull. Acad. Roy. Med. Belg. 1952 - 18 - p. 426

20 - BACQ Z.M., HERVE A.
Cyanure et rayons X
J. Physiol. 1949 - 41 - 124

21 - BACQ Z.M. , HERVE A.
The protective effect of amines against X irradiation
J. Physiol. 1952 - Vol. 118 -

22 - BACQ Z.M., HERVE A., LECOMTE J., FISCHER P., BLAVIER J. DECHAMPS G., LE BIHAN H. et RAYET P.
Protection contre les rayonnements X par la beta mercaptoethylamine.
Arch. Intern. Physiol. 1951 - 59 - 442 -

23 - BACQ Z.M., HERVE A.
Protection of mice against lethal dose of X -rays by cyanide, azide and malononitrile
Brit. J. Radiol. 1951 - 24 - 617

24 - BACQ Z.M. - LIEBECQ C., LIEBECQ-HUTTER S.
Fluoroacetate protection against irradiation
Rad. Res. 1966 - 13 - p. 286 -

25 - BACHOFFER C.S., HARTWIG Q.L.
Relation of structural configuration to protection against ionizing radiations.
Rad. Res. 1956 - n° 6 - Vol. 5 - p.528 -

26 - BALNER H., OLD L.J., CLARK D.A.
Reduction of X-rays lethality in mice by agents affecting the reticuloendothelial system.
Rad. Res. 1961 - 15 - p.836 -

27 - BARRON E.S.G., DICKMAN S. , MUNTZ J.A., SINGER T.P.
Studies on the mechanism of action of ionizing radiations
Gen. Physiol. 1948 - 32 - 537 -

28 - BEAUMARIAGE M.L.
Propriétés radioprotectrices de la cystamine chez le raton et le poussin
C.R. Soc. Biol. 1957 - 10 - p. 1788 -

29 - BEAUMARIAGE M.L., LIEBECQ-HUTTER S. et FREIRE S.P.
Essai de radioprotection chez la souris par deux dérivés de l'aniline.
Arch. Int. Physiol. Biochem. 1961 - 69 - p.107 -

30 - VAN BEKKUM D.W.
The protective action of dithiocarbamates against lethal effects of X-irradiation in mice.
Acta. Physiol. Pharmacol. Neer. 1956 - 4 - 508

31 - BETZ H.E.
L'effet protecteur de KCN sur la léthalité de souris irradiées à diverses doses de rayons X.
C.R. Soc. Biol. 1950 - 144 - 1015

32 - BETZ C.H.
sur le mécanisme de protection par la thiourée chez la souris irradiée à dose léthale de rayons X
C. R. Soc. Biol. 1954 - 148 - p.1915

33 - BETZ E.H., BOOZ G. , LELIEVRE P.
Effet protecteur de la cystéamine et de la cystamine sur les thymocytes irradiés "in vitro"
Rev. Fr. Et. Clin. Biol. 1961 - 6 - p.39 -

34 - BONNET-MAURY P., PATTI F.
The protective effect of carbon monoxide and other gases on mice irradiated in toto by X-irradiation
J. Radiol. Elect. 1954 - 35 - 851 -

35 - BOUCHERLE A.
Contribution à l'étude des imidazolinones et des imidazolinethiones
Thèse Sciences - Lyon - 1953

36 - BRADFORD R.H., SHAPIRA R., DOHERTY D.G.
The intracellular distribution and binding of radiation protective mercaptoalkylguanidines
Int. J. Rad. Biol. GB - 1961 - 3 - p.595

37 - VAN DEN BRENK H.A.S. , JAMIESON D.
Studies of mechanisms of chemical radiation protection in vivo- II - Effect of high presure oxygen on radioprotection in vivo and its relationship to "oxygen poisoning".
Int. J, Rad. Biol. 1962 - Vol. 4 - n°4 - p.379

38 - VAN DEN BRENK H.A.S., HAAS M.
Studies of mechanisms of chemical radiation protection in vivo - I - 5-hydroxytryptamine in relation to effect of antimetabolities, antagonists and releaning agents.
Int. J. Rad. Biol. GB - 1961 - 3 - p.73 -

39 - BRIDGES B.A., KOCH R.
Radiation protection by some sulphydryl derivatives of pyridoxine and a new BAL preparation
Int. J. Rad. Biol. 1961 - 3 - p.49

40 - BRINKMAN R., LAMBERTS H.I., ZUIDEVELD J.
Contributions to the study of immediate and early X-ray reactions with regard to chemoprotection
III - The filtration of water and of red cells through thin connective tissue corium membranes under low-level X-irradiation
Int. J. Rad. Biol. GB - 1961 - 3 - p.509 -

41 - BRINKMAN R., LAMBERTS H.B., ZUIDEVELD J.
Contributions to the study of immediate and early X-Ray reactions with regard to chemoprotection
II - Irradiation and chemoprotection of fresh synovia as a model of mucopolysaccharide depolymerisation.
Int. J. Rad. Biol. 1961 - Vol. 3 - p.279

42 - BRINKMAN R., VENINGA T.S. -
Contributions to the study of immediate ans early X-ray reactions with regard to chemoprotection.
V - liberations of serotonine (and other amines) in the frog after X irradiation.
Int. J. Rad. Biol. 1961 - 4 - p.249

43 - CATINOT L., LOISELEUR J., VOMECOURT DE A.
Radioprotection cutanée du rat par le bleu de méthylène, le dinitrophénol et l'aminothiazol.
C.R. Acad. Sc. Fr. 1961 - 253 - (15) - p.1624 -

44 - CHAMBON M. , GUYOT M.
Semi microdosage volumétrique du soufre en liaison organique.
Ann. Pharm. Fr. 1952 - 10 - p.685

45 - CIER A. et NOFRE C.
Recherches sur les mécanismes de l'hydroxylation aromatique par des systèmes chimiques à processus radicaliques.
Bull. Soc. Chim. 1959 - 10 - p.1523

46 - CRONKITE E.P., BRECHER G., CHAPMAN W.H.
Mechanism of protective action of glutathione against whole body irradiation
Proc. Soc. Exp. Biol. Méd. 1951 - 76 - 396 -

46Bis CROWTHER J.A.
Some considerations relative to the actions of X-rays on tissue cells.
Proc. Roy. Soc. B. 1924 - 96 - 207 -

47 - DALE W.M. -
Protection ans sensitization-protection effect and its specificity in irradiated aqueous solutions.
Disc. Faraday Society - 1952 - n°12 p.186 -

48 - DALE W.M., GRAY L.H., MEREDITH W.J.
The irradiation of an enzyme (carboxypeptidase) by X and alpha radiation
Trans. Roy. Soc. Serie A. - 1949 - n°839 - Vol. 242 p.1

49 - DARDELET J.
Etude expérimentale du pouvoir radioprotecteur de trois thiotetrahydroimidazoles
Thèse Médecine - Lyon - 1959 -

50 - DIXON W.J., MOOD A.M.
A method for obtained and analyzing sensitivity data
J. Am. Stat. Assoc. 1948 - 43 - p. 109

51 - DOHERTY D.G., BURNETT W.T., SHAPIRA R.
Chemical protection against ionizing radiation
II - mercaptoalkylamines and related compounds with protective activity
Rad. Res. 1957 - 7 - p. 13 -

52 - DOMER F.R., SCHUELER F.W.
X-ray protection of certain sulfhydryl compounds and their precursors in mice.
Arch. Int. Pharmac. Therapie. Belg. 1960 - 127 - p.128

53 - DOWDY A.H., BENNETT L.R., CHASTAIN S.M.
Protective action of anoxie anoxia against total body roentgen irradiation of mammals
Radiology - 1950 - 55 - 879 -

54 - DUBININ N.P., SIDOROV B.N., SOKOLOV N.N.
An experimental study of the primary action of radiation on the cell nucleus
Dokl. Akad. Nauk SSSR - 1960 - Vol. 133 - n°1 - p.221

55 - DUPLAN J.F., ROSEMBERG A.J.
Action préservatrice de la glucosamine vis à vis de l'action lethale d'une irradiation totale par rayons X chez la souris
C.R. Acad. S. 1954 - 239 - p.116 -

56 - DUSCHINSKY R., DOLAN L.A.
Studies in the imidazolone series. Synthesis of a lower and a higher homolog of desthiobiotin and of related substances.
J. Am. Chem. Soc. 1946 - 68 - p.2350

57 - ELDJARN L., et PIHL A.
The cysteine-cysteamine groups of protective agents : chemical structure, protective ability and mixed disulfide formation
Rad. Res. 1958 - 9 - 110

58 - ELLINGER L.P., GOLDBERG A.A.
Anew route to imidazoles : synthesis of 2-(aminoalkyl) derivatives of 4-methyliminazole
J. Chem. Soc. 1949 - p.263 -

59 - FALLOWFIELD T.L.
The influence of hypothermia involving minimal hypoxia on the radiosensitivity of leucocytes in the rat
Int. J. Rad. Biol. 1962 - Vol.4 - n°5 - p.457

60 - GABRIEL S., JOHNSON T.B.
Zur Kenntniss der amidoketone
Ber. 1893 - 26 - P.2197 -

61 - GATEWOOD E., JOHNSON T.B.
A preliminary study of some aminoacids derivatives containing sulfur in thio-amide combination
J. Am. Chem. Soc. 1926 - 48 - p.2900

62 - GENAZZINI E., DIMEZZA F., DI CARLO V.
Recherches sur l'activité radioprotectrice de l'acide thioctique
Arch. Int. Pharmacodynam. 1958 - 114 - 336 -

63 - GRAEVSKY E.Y., BARAKINA N.F., CONSTANTINOVA M.M. SMIRNOVA I.B.
Investigations on radiation protection in mammals
Second Int. Cong. of radiation Research - Harrogate - 1962 -

64 - GRAEVSKII E.Y., KONSTANTINOVA M.H.
Investigations of the mechanism of the antiradiation protective effect of certain sulfur-containing substances
Dokl. Akad. Nauk SSSR. 1960 - Vol. 133 - n°4 - p.989

65 - GRIGORESCO S., TRANCO A., POPP I., HAVLICA I., VANDROVSCHI A., LECCA M., NEDELESCO P.
Experimental research into the radiation protective mechanism of beta-mercaptoethylamine.
Second. Int. Cong. of radiation research - Harrogate - 1962 -

66 - HOLMBERG B. et SORBO B.
Protective effect of beta-aminoethylthiosylphic acid against ionizing radiation
Nature - 1959 - 183 - 832 -

67 - JOHANSEN IVAR
The modifying effects of hypothermia and anoxia on the X-ray sensitivity of the 4-day-old-chick embryo
Int. J. Rad. Biol. 1961 - Vol.3 - n°4 - p.411

68 - KALUSZYNER A., CZERNIAK P., BERGMANN E.D.
Thiazolidines and aminoalkylthiosulfuric acids as protecting agents against ionizing radiation
Rad. Res. 1961 - 14 - p.23

69 - KHYM J.X., SHAPIRA R., DOHERTY D.G.
Ion exchange studies of transguanilation reactions
I. Rearrangement of S. 2.aminoethylisothiourea to 2-mercaptoethylguanidine and 2-aminothiazoline
J. Am. Chem. Soc. 1957 - 79 - 5663

70 - KIMBALL A.W., BURNETT W.T., DOHERTY D.G.
Chemical protection against ionizing radiation
Sampling methods for screeming compounds in radiation protection studies with mice
Rad. Res. 1957 - 7 - p.1 -

71 - KONSTANTINOVA M.M., GRAEVSKII E.Y.
Tissue hypoxia as the mechanism of the radioprotective action of adrenalin, heroin and morphine
Dokl. Akad. Nauk. SSSR. 1960 - Vol.132 - n°6 - p.1427

72 - KREBS J.S., BRAUER R.W.
Limited effectiveness of anoxic anoxiain protecting against residual radiation injury in mammals
Rad. Res. 1961 - 15 - p.814

73 - LACASSAGNE A.
Chute de la sensibilité aux rayons X chez la souris nouveau née en état d'asphyxie
C.R. Acad. Sc. 1942 - 215 - p.231

74 - LACASSAGNE A., DUPLAN J.F., BUU-HOI N.P.
Some new experimentatal on protection against whole body irradiation
J. Nat. Canc. Inst. 1955 - Vol.15 - n°4 -

75 - LAMBERTS H.B. DIJKEN B.G.
Contributions to the study of immediate and early X ray reactions with regard to chemoprotection
Gastric retention in rats after whole-body irradiation
Int. J. Rad. Biol. 1961 - 4 - p.43 -

76 - LANGENDORFF H., KOCH R.
Untersuchun gen uber einen biologischen strahlenschutz
XXIII - Homocysteinthiolactonals strahlenschutz
Strahlentherapie - 1958 - 106 - 461 -

77 - LANGENDORFF H. KOCH R., HAGEN V.
Toxic effect of thiourea as the means of its radio protective effects
Arch. Int. Pharm. Therapie. 1955 - 104 - p.57

78 - LANGENDORFF H., LANGENDORFF M., KOCH R.
Untersuchungen uber einen biologischen strahlenschutz
XXIV - Ueberprufung des spezifischen strahlenschutz effektes der cystein-cysteamin gruppe unter beru sichtigung eines mercaptopyridinderivates
Strahlentherapie - 1958 - 107 - 121

79 - LANGENDORFF H., MELCHING H.J., LANDER H. A.
5-Hydroxytryptamine as a radiation protective substance in animals
Int. J. Rad. Biol. 1959 - Vol. 1 - p.24

80 - MAISIN J.R.
Protection chimique des mammifères contre les radiations
Rev. Fr. D'Et. Clin. Biol. 1961 - 6 - 4 - p.378

81 - MAISIN J., DUNJIC A., MALDAGNE P. et DECKERS-PASSAU
Action protectrice de l'acide ribonucléique et du ribonucléate chez le rat blanc irradié in toto
C.R. Soc. Biol. 1959 - 153 - p.379

82 - MAQSOOD M., ASHIKAWA J. K.
Post irradiation protection and recovery - I - effects of lipide on hoematopoietic organs of irradiated male mice
Int. J. Rad. Biol. 1962 - Vol.4 - n°5 - p.521

83 - VAN DER MEER C., VAN BEKKUM D.W.
The mechanism of radiation protection by histamine and other biological amines
Int. J. Rad. Biol. 1959 - 1 - p.5 -

84 - VAN DER MEER C., VAN BEKKUM D.W.
A study on the mechanism of radiation protection by 5-hydroxy-tryptamine and tryptamine
Int. J. Rad. Biol. 1961 - vol.4 - n° 1 - p.105

85 - VAN DER MEER C., VOS O., VERGROESEN A.J., VAN BEKKUM D.W.
On the mechanism of the radioprotective action of cyanide
Int. J. Rad. Biol. 1961 - 4 - p.311

86 - MEWISSEN D.J.
The effect of mercaptoethylamine on survival of mice irradiated with Cobalt 60
Rad. Res. 1957 - Vol. 6 - n°1 - p.85

87 - MOELLER H.C., VAETH J.M.
The effect of injected fat emulsion on survival of rats exposed to total-body irradiation
Rad. Res. 1961 - 15 - p.709

88 - MONDOVI B., TENTORI L., DEMARCO C., CAVALLINI D.
Distribution of cytamine - ^{35}S in the subcellular particles of the organs of the rat
Int. J. Rad. Biol. 1962 - Vol.4 - p.371

89 - MUNDY R.L., HEIFFER M.H.
The pharmacology of radioprotectant chemicals. General pharmacology of beta-mercaptoethylamine
Rad. Res. 1960 - 13 - p.381

89bis MUNDY R.L., HEIFFER M.H., LEIFHEIT H.C.
Blood and urine sulfhydril and disulfide levels after large doses of betamercaptoethylamine (M.E.A.) - and cystamine.
Rad. Res. 1961 - 14 - p.421

90 - NOFRE C.; CIER A., et LEFIER A.
Activation de l'oxygène moléculaire en solution aqueuse par les ions métalliques et leurs chélates
Bull. Soc. Chim. 1961 - p.530 -

91 - PATT H.M., TYREE E.B., STRAUBE R.L., SMITH D.E.
Cysteine protection against X -irradiation
Science - 1949 - 110 - p.213

92 - PRESTON R.L., WELLS A.F., ERSHOFF B.H.
Comparative effects of intraperitoneal and oral administration of AET on survival of X-irradiated Rats
Rad. Res. - 1959 - Vol.11 - n°2 - p.255 -

93 - RENSON J.
Radioprotection de la souris par la 5-hydroxytryptamine et quelques substances voisines
Arch. Int. Physiol. et de Biochimie. 1960 - 68 - p.531

94 - RINALDI R.
La protection chimique contre les effets des radiations ionisantes
Quinzaine des Sciences Nucléaires. Montpellier - 1962

95 - RINALDI R. et BERNARD Y.
Etude des propriétés antithyroïdiennes et radioprotectrices de composés de la famille des 5-thione-imidazolidines.
Rapport C.E.A. n° 1841 - 1961

96 - RINALDI R., BERNARD Y.
L'imidazole et certains de ses dérivés en radioprotection chimique
C.R. Acad. Sciences - 1962 - 254 - p.4217

96bis RINALDI R., BERNARD Y.
Etude de l'activité radioprotectrice du noyau imidazole et de quelques uns de ses dérivés
Troisième Congrès International de la fédération internationale d'Hygiène et de médecine préventive
"La protection des irradiations dans la santé publique"
Vienne - 1962 -

97 - RIXON R.H., WHITFIELD J.F.
Effect of E.D.T.A. on survival of X-irradiated rats.
Int. J. Rad. Biol. 1961 - 3 - 439 -

98 - ROBEV S.K.
The radiation protective propriétés of amidine compounds
Second. Int. Cong. of Rad. Res. - Harrogate - 1962 -

99 - SCHWARTZ E.E., SHAPIRO D.
The protection of mice against radiation by 2-mercapto ethylguanidine and its disulfide
Rad. Res. 1960 - 13 - p.641 -

100 - SHAPIRO N.I., BELITSINA N.V.
Antibiotics as substances affecting the efficiency of radiation action on cells
Dokl. Akad. Nauk.SSSR . 1960 - Vol.130 - n°4 - p.904

101 - SHAPIRO B., DICKENS A.
The mechanism of action of AET - I - The radiation chemistry of 2-mercaptoethylguanidine et bis(2-guanidinethyldisulfide) in aqueous buffered solutions
Rad. Res. 1960 - 13 - p.857 -

102 - SHAPIRO B., DOHERTY D.G., BURNETT N.T.
Chemical protection against ionizing radiation
III - Mercaptoalkylguanidines and related isothiu--ronium compounds with protective activity.
Rad. Res. 1957 - 7 - p.22 -

103 - SHAPIRO B., SCHWARTZ E.E., KOLLMANN G.
Studies on the mechanism of action of the radiation protective agent A.E.T. ; distribution and metabolism in mice
Second Int. Cong. of Rad. Res. - Harrogate - 1962 -

104 - SMITH D.E.
Failure of cysteine given postirradiation to protect the hibernating ground squirrel
Rad. Res. 1960 - Vol. 12 - p.79 -

105 - VENINGA T.S., BRINKMAN R.
Contributions to the study of immediate and early X-ray reactions with regard to chemoprotection
VI - Random liberation of biogenic amines as a cause of early irradiation effects
Int. J. Rad. Res. 1962 - 5 - p.283 -

106 - VERGROESEM A.J., VOS O., BUDKE L.
Radiation protection of tissue culture cells by anoxia, cysteamine and a combination of anoxia and cysteamine
Nature (GB) - 1962 - 194 - p.100 -

107 - WOHL A., MARCKWALD W.
Ueber condensations producte aus amidoacetal
Ber. 1889 - 22 - p.568 -

T A B L E DES M A T I E R E S

Pages

Introduction 1

Ière PARTIE

GENERALITES SUR LA PROTECTION CHIMIQUE

Chapitre I : Rappels de radiobiologie 5

Chapitre II : Composés radioprotecteurs 9

Chapitre III : Mécanisme d'action des radio-protecteurs...................... 19

IIème PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

Chapitre IV : Les composés étudiés : Synthèse, Toxicité...................... 33

Chapitre V : Méthodes et appareillage......... 59

Chapitre VI : Résultats 64

Conclusion.. 80

Bibliographie 82

DEUXIEME SUJET

ETUDE DES LAMES MINCES ORGANIQUES ABSORBANTES PAR LA DETERMINATION DE LEURS PROPRIETES OPTIQUES